

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**inéditas**



**TESIS DOCTORAL**

**Alteraciones hidroelectrolíticas en el mieloma multiple**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**María Teresa Ibars Dorado**

**Madrid, 2015**

R. 9. 771

TA 1133

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE MEDICINA

CATEDRA DE PATOLOGIA Y CLINICA MEDICAS  
Prof. Dr. D. Amador Schüller Pérez

"ALTERACIONES HIDROELECTROLITICAS EN EL MIELOMA MULTIPLE"



Autor: María Teresa IBARS DORADO

MADRID, 1982



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE



5311809561

### AGRADECIMIENTOS

Al Prof. Dr. D. Amador Schüller, por haber aceptado la dirección de esta Tesina, y sin cuya ayuda no habría sido posible la realización de la misma.

Al Dr. Ramírez, por su constante apoyo e inestimable ayuda durante todo el tiempo que duró la elaboración de esta Tesina.

A los pacientes, motivo de nuestra labor clínica diaria, por su continua colaboración y estímulo.

Al Dr. Valdivieso, por su amable colaboración, sirviendome de aval en ausencia del director de esta tesina.

## I N D I C E

### PRIMERA PARTE

I.- JUSTIFICACION	2
II.- INTRODUCCION	5
III.- BASES Y FUNDAMENTOS DE LAS INMUNOGLOBULINAS	11
1) Estructura de las inmunoglobulinas	12
1a. Clases y subclases de inmunoglobulinas	17
1b. Biosíntesis de las inmunoglobulinas	36
1c. Ensamblado y secreción de las inmuno- globulinas	42
1d. Desórdenes en la síntesis de las in- munoglobulinas	49
1e. Metabolismo de las inmunoglobulinas	49
IV.- MIELOMA MULTIPLE	54
1) Concepto	55
2) Análisis de los métodos de laboratorio utili- zados para el diagnóstico del mieloma múltiple	72
2a. Electroforesis del suero	74
2b. Inmunoelectroforesis del suero	80
2c. Inmunodifusión radial	84
2d. Inmunofijación	85
2e. Crioglobulinas	86
2f. Piroglobulinas	86

2g. Test de SIA	87
2h. Análisis de proteína M en orina	87
2i. Electroforesis e inmuno-electroforesis de orina	89
2j. Médula ósea	96
V.- EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DEL MIELOMA MULTIPLE	100

## SEGUNDA PARTE

I.- HIPOTESIS DE TRABAJO	105
II.- MATERIAL	107
III.- METODOS	115
1) Electroforesis del suero y orina	116
2) Inmuno-electroforesis del suero y orina	116
3) Inmunodifusión radial. Nefelometría	117
4) Determinación de calcio sérico	118
5) Determinación de creatinina sérica	119
6) Determinación de sodio plasmático	120
7) Determinación de cloro plasmático	122
8) Metodica estadística	123
IV.- RESULTADOS	125
V.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS	158
VI.- CONCLUSIONES	164
VII.- BIBLIOGRAFIA	169

---

P R I M E R A   P A R T E

---

I.- JUSTIFICACION

JUSTIFICACION.-

Se conoce desde fecha no muy lejana, aproximadamente hacia 1.967 la presencia de hiponatremia como alteración hidroelectrolítica fundamental en enfermos portadores de paraproteína monoclonal en el suero y no ante la existencia de un aumento difuso (policlonal) de las inmunoglobulinas. Este hallazgo, ha venido a demostrar de alguna manera la posible relación existente entre la presencia de una paraproteína monoclonal en el suero y el descenso del sodio sérico.

En el presente trabajo motivo de esta tesina intentamos:

- 1) Objetivar que tipo de alteraciones hidroelectrolíticas si es que existen se dan en un grupo de enfermos adultos portadores de mieloma múltiple.
- 2) Una vez demostradas las alteraciones hidroelectrolíticas intentar correlacionar estas fundamentalmente con la paraproteína de cada caso concreto y de esta manera ver si existe o no correlación con significación estadística.

Así pues, con esta finalidad hemos estudiado a 20



enfermos afectos de mieloma múltiple, refiriéndonos de forma casi exclusiva a las alteraciones electrolíticas presentes en ellos.

Hemos valorado de forma sistemática los siguientes parámetros:

- Calcio sérico.
- Creatinina.
- Aclaramiento de creatinina.
- Inmunoglobulina G.
- Inmunoglobulina A.
- Inmunoglobulina M.
- Sodio sérico.
- Cloro sérico.

En todos los pacientes estudiados se realizó electroforesis en sangre y orina e inmunolectroforesis en sangre y orina, siendo por tanto éstas las bases de la presente Tesina para optar al grado de licenciado.

## II.- INTRODUCCION

## INTRODUCCION.-

La introducción de procedimientos automatizados para la determinación de rutina de los electrolitos del suero, requiere que todos los medicos sean capaces de interpretar correctamente tales datos. Dentro de ellos, debemos ser capaces de reconocer y tratar los disturbios más evidentes aunque siempre queda un número de casos de diagnóstico más complicado que deben ser investigados para confirmar el diagnóstico auténtico de la enfermedad y el tratamiento del paciente.

El sodio y el potasio del suero son representativos de los cationes del fluido extracelular y de hecho constituyen el 95% de todos los cationes presentes. El cloro y el bicarbonato, que son los constituyentes aniónicos representan solo el 85% de los aniones del fluido extracelular. Es evidente por ello, que la suma de los aniones medidos no puede contrabalancear la suma de los cationes medidos. Esta diferencia en mEq/l es denominada A-Gap. El valor medio normal para el A-Gap es de  $12,4 \pm 2$  mEq/l (1). Se sabe, que todas las cargas positivas deben ser neutralizadas por un número igual de cargas negativas. Ello, confirma claramente como es conocido que el A-Gap indica, que otros aniones distintos al cloro y bicarbonato, deben estar

presentes para contrarrestar la carga positiva combinada del sodio y del potasio. Dado que solo 130 de los 145 mEq/l de cargas positivas combinadas de sodio y potasio son neutralizadas por el cloro y el bicarbonato, los 15 mEq/l restantes de carga negativa deben ser conceptuados como proteínas, sulfatos, fosfatos, etc., que están presentes en el fluido extracelular (2).

En los estados de hiperviscosidad la determinación del sodio sérico puede ser falsamente baja, pudiendose reducir falsamente el A-Gap calculado. El error en la medición del sodio es proporcional al nivel de hiperviscosidad, este puede ser tan grande como de 40 mEq/l en situaciones con hiperviscosidad severa (3). Por ello, el hallazgo de una hiponatremia severa puede ser el primer signo de la presencia de un estado de hiperviscosidad en un enfermo con mieloma múltiple.

Hiponatremias extremas se han observado en pacientes con mieloma múltiple sin que hubiese existido una sintomatología clínica correspondiente (4) (5) (6). En las observaciones existentes la hipohatremia estaba descartada al máximo, cuando la viscosidad del suero estaba por encima de la normalidad, relacionado con el ascenso considerable de las concentraciones de gammaglobulinas. Mediante mediciones pos-

teriores de los mismos sueros con sistemas independientes de la viscosidad, obtuvimos concentraciones de sodio normales. Se confirma que con el método de rutina la hiponatremia identificada se debe considerar como determinación equivocada por razones de errores de la dilución (7). Es bien conocido que la determinación de sodio en suero con alta viscosidad es problemática (3).

Para la explicación de esta hiponatremia Bloth y (4), Frick et al (5) encontraron mediante la determinación del punto isoeléctrico el comportamiento como cationes de las paraproteínas, en cambio a proteínas normales. Ellos lo sacaron como conclusión de sus historias clínicas, tratándose de pacientes con plasmocitomas, observaron la hiponatremia como una consecuencia del posible desplazamiento de la paraproteína. Una sustitución del sodio por la paraproteína catiónica puede ser el contribuyente en teoría en una medida mínima a la hiponatremia.

La parte de las proteínas influyentes en la osmolaridad sérica resulta en condiciones normales solamente del 5% (9) y se compara en la mayoría de los casos con la albúmina de pequeñas moléculas y en este caso con la paraproteína. Una parte digna de mención del sodio sérico no se puede sustituir en primer lugar por causas de espacio por

la paraproteína, ya que la osmolalidad sérica la cual era normal para algunos (5), otros no la determinaron (4) depende del número de pequeñas unidades soltadas y no de su tamaño.

Parte de las causas responsables de las modificaciones de los electrolitos séricos existentes en las paraproteinemias son por lo tanto consecuencia de una disminución de la parte proporcional del agua del suero, produciéndose aumento de la concentración de albúmina. Las modificaciones producidas por lo anteriormente expuesto son sin embargo naturales y las mismas son corregidas por los datos de las concentraciones electrolíticas con su molalidad. De esta forma las concentraciones séricas de cloro en mmol/Kg sérico eran en todos los pacientes estudiados normales, mientras que los datos de molaridad correspondiente mostraron en 4 casos valores disminuidos (7).

El aumento extremo de lípidos (10) (11) observado por otros autores y también las hiponatremias observadas por otros en las paraproteinemias (6) (12) podían ser corregidas teniendo en cuenta la parte disminuida del agua sérica.

Tomando como base al mismo tiempo los valores de-

terminado con el método independiente de la viscosidad, la concentración de sodio sérico en los pacientes con mieloma múltiple era más baja en comparación con las personas del grupo control en su molaridad y no en su molalidad (7).

La osmolalidad sérica normal demostrada deja excluir una hiponatremia por dilución en todos los casos.

Un comportamiento normal de la actividad de renina plasmática y de la eliminación renal de sodio se opone a una falta del mismo. La observación de una hiponatremia avanzada existente en un mieloma múltiple debería ser en primer lugar un error teórico de medición para que se eviten de esta forma falsas consecuencias terapéuticas (7).

### III.- BASES Y FUNDAMENTOS DE LAS INMUNOGLOBULINAS



### 1.- ESTRUCTURA DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

El sistema inmunitario está integrado por dos componentes principales: la inmunidad celular y la inmunidad humoral. Estos componentes se desarrollan a lo largo de vías de diferenciación separadas pero interrelacionadas, donde intervienen diversos tipos de células y tejidos. El linfocito es la célula central en inmunología. Los estudios de diversos marcadores sobre la membrana de los linfocitos y sus actividades funcionales han permitido la identificación de dos poblaciones principales de linfocitos denominadas como linfocitos T y B. Aunque representan poblaciones separadas, estudios recientes han demostrado diversos campos de cooperación entre los linfocitos T. y los linfocitos B. . Los linfocitos T. son llamados así porque derivan del timo ó son influidos por él durante su desarrollo. Las células son responsables de diversas funciones en la inmunidad celular, incluyendo la reactividad cutánea retardada, la defensa contra ciertos microorganismos como hongos, bacterias patógenas intracelulares, poxvirus, etc., el rechazo inmunitario y la inmunidad antitumoral.

Los linfocitos B. son así denominados debido a que se desarrollan en la bolsa de Fabricio en las aves y en la médula ósea de algunas especies animales, quizás inclu-

yendo la humana. Los linfocitos B. y su progenie, las células plasmáticas son las responsables de las funciones de la inmunidad humoral. Esta última es expresada a través de la producción de proteínas plasmáticas circulantes denominadas anticuerpos ó inmunoglobulinas.

Las inmunoglobulinas son las moléculas proteicas que portan actividad de anticuerpos, es decir, la propiedad de combinarse específicamente con la sustancia que provocó su formación (antígeno).

Con la posible excepción de los anticuerpos naturales, los anticuerpos se originan como respuesta a las sustancias extrañas introducidas en el organismo. Las inmunoglobulinas comprenden un grupo de proteínas que constituyen el 20% de las proteínas totales. En la electroforesis del suero, la mayoría de las inmunoglobulinas emigran a la zona designada como gammaglobulina, pero también se encuentran cantidades significativas en la zona de las betaglobulinas. Poblaciones diferentes de inmunoglobulinas se hallan también en proporción variable en los líquidos extravasculares, en las secreciones exocrinas y sobre la superficie de algunos linfocitos. Las actividades biológicas de las inmunoglobulinas , solo pueden ser entendidas sobre la base del conocimiento de su estructura.

Las inmunoglobulinas son glucoproteínas compuestas de 82-96% de polipéptidos y de 4-18% de carbohidratos. El componente polipeptídico posee **casi** todas las propiedades biológicas asociadas con las moléculas de anticuerpos. Las moléculas de anticuerpos son altamente heterogeneas como puede demostrarse con el análisis serológico (es decir, antígeno), electroforético y del orden de sucesión de los aminoácidos. Esta heterogeneidad, dificultó los estudios iniciales de su estructura. Dos descubrimientos mayores fueron introducidos durante el periodo del estudio estructural detallado de los anticuerpos. El primero de ellos, fue el descubrimiento de que las enzimas podrían ser empleadas para digerir las moléculas de inmunoglobulinas y transformarlas en componentes más pequeños. El segundo de ellos fue la verificación de que la proteína electroforéticamente homogénea encontrada en el suero y en la orina de un paciente con Mieloma Múltiple estaba relacionada con las inmunoglobulinas normales.

Se encontró que esa proteína del Mieloma tenía una estructura homogénea. También fue denominada proteína monoclonal, ya que era sintetizada por un solo clono de células plasmáticas malignas. Nuestro conocimiento en la estructura de las inmunoglobulinas, está basado primordialmente en los estudios de las proteínas monoclonales.

Cada inmunoglobulina contiene una unidad básica o monomero que comprende cuatro cadenas polipeptídicas, (fig. 1). En 1.959, Porter (12), empleó la enzima proteolítica papaina para desdoblar la inmunoglobulina G del conejo en fragmentos que retenían su actividad biológica. Edelman, demostró que las moléculas de inmunoglobulina G (IgG) podían ser separadas en las cadenas componentes H y L después de la reducción de los enlaces disulfuro con mercaptoetanol. Estos estudios establecieron un modelo de cuatro cadenas para la IgG. Subsiguientemente se ha demostrado que todas las inmunoglobulinas normales tienen esta estructura básica. Cada unidad básica, tiene una región de bisagra, localizada en la mitad de las cadenas gamma, alfa, y probablemente de las cadenas delta, y cerca de la mitad de las cadenas mu y épsilon. En la unidad básica de cuatro cadenas es flexible en la región de la bisagra, en la cual abunda la prolina y está más expuesta y es más vulnerable al desdoblamiento por las enzimas proteolíticas. La digestión por la papaina de la IgG<sub>1</sub> humana produjo dos fragmentos Fab y un fragmento Fc. Cada fragmento Fab retiene la actividad fijadora de antígenos y es capaz de fijar un determinante antigénico. Por otra parte, el fragmento Fc retiene la mayor parte de las otras funciones, biológicas, incluyendo la fijación del complemento, transferencia placentaria, anafilaxis cutanea pasiva, catabolismo, etc. En condiciones apro-

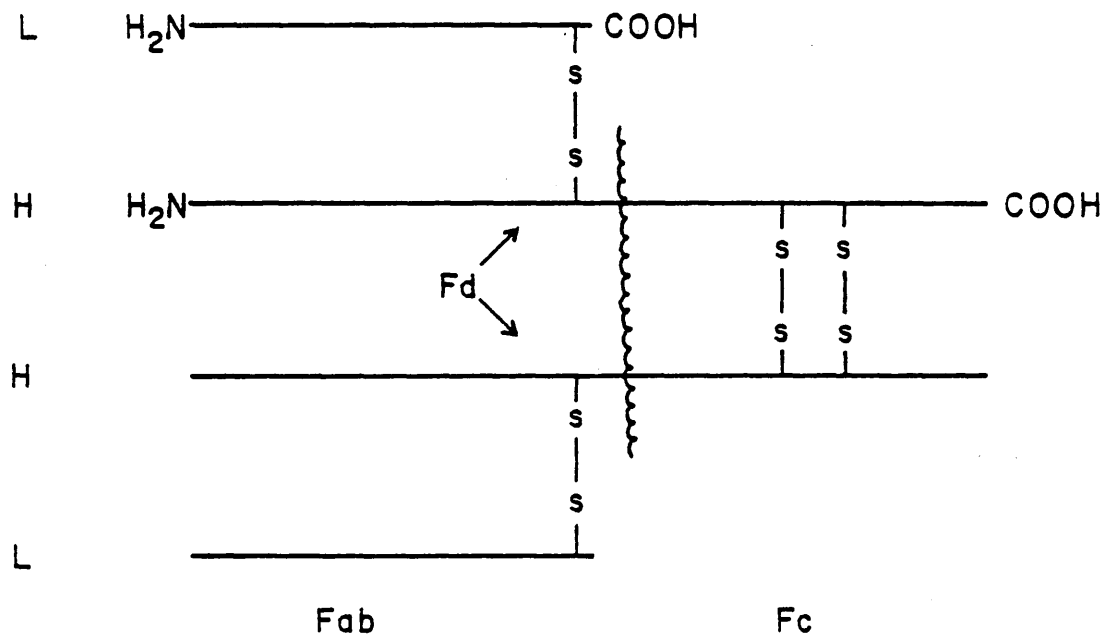


FIG. 1:- REPRESENTACION ESQUEMATICA DE LA MOLECULA DE IgG.  
 TOMADO DE KYLE R.A.: INMUNOGLOBULINS AND SYNDROMES  
 ASSOCIATED WITH MONOCLONAL GAMMOPATHIES IN TICE'S  
 PRACTICE OF MEDICINE, VOL.1 CHAP.48 , 1977

piadas, muchas otras enzimas (pepsina y tripsina) y sustancias químicas (bromuro de cianógeno), son también capaces de desdoblar las inmunoglobulinas en la región de la bisagra produciendo dos fragmentos Fab y un fragmento Fc. Es importante señalar que aunque todas las inmunoglobulinas poseen las características unidades básicas de cuatro cadenas, ocasionalmente se han observado inmunoglobulinas anormales que son derivadas de su estructura general. Estas inmunoglobulinas anormales incluyen la proteína de Bence-Jones que consta de cadenas L, la enfermedad de cadenas pesadas H que se compone de cadenas H incompletas y en raras ocasiones de cadenas L. incompletas.

#### 1a.- CLASES Y SUBCLASES DE INMUNOGLOBULINAS.-

Los determinados antígenos de las diversas cadenas pesadas (H) y ligeras (L) de las diferentes inmunoglobulinas se pueden identificar usando antisueros monoespecíficos para las inmunoglobulinas. Las inmunoglobulinas se clasifican en clases y subclases de acuerdo con las diferencias antigénicas de las regiones constantes de las cadenas H. (cuadro 1). En forma semejante, las cadenas L. Se clasifican en tipos Kappa y Lambda  $\lambda$ ,. Los subtipos de las cadenas L. han sido identificados ocasionalmente en ciertas especies por métodos serológicos o bioquímicos.

Igs	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
SINONIMIAS	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ $\gamma G$	$\beta_2, \beta_2A$ $\gamma_1A, \gamma A$	$\gamma_1, \gamma_2, \gamma_3, \gamma_4$ $\beta_2M, \gamma_1M$ $\gamma M$	$\gamma D$	$\gamma E$
CADENAS PESADAS	Gamma ( $\gamma$ )	Alpha ( $\alpha$ )	Mu ( $\mu$ )	Delta ( $\delta$ )	Epsilon ( $\epsilon$ )
CLASES Y SUBCLASES	IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> IgG <sub>3</sub> , IgG <sub>4</sub>	IgA <sub>1</sub> , IgA <sub>2</sub>	IgM <sub>1</sub> , IgM <sub>2</sub>	?JA + LA	
CADENAS LIGERAS	K	K	K	K	K
TIPOS	$\lambda$	$\lambda$	$\lambda$	$\lambda$	$\lambda$
FORMULA MOLECULAR	$\gamma_2 \lambda_2$ $\gamma_2 K_2$	$\alpha_2 \lambda_2^+$ $\alpha_2 K_2^+$	$(\mu_2 \lambda_2)^5$ $(\mu_2 K_2)^5$	$\delta_2 \lambda_2$ $\delta_2 K_2$	$\epsilon_2 \lambda_2$ $\epsilon_2 K_2$
NOMENCLATURA	IgGK IgG $\lambda$	IgAK IgA $\lambda$	IgMK IgM $\lambda$	IgDK IgD $\lambda$	IgEK IgE $\lambda$

CLASIFICACION DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS.  
 † PUEDEN FORMAR POLIMEROS.

TOMADO DE KYLE R.A : INMUNOGLOBULINS AND SYNDROMES  
 ASSOCIATED WITH MONOCLONAL GAMMOPATHIES IN TICE'S  
 PRACTICE OF MEDICINE, VOL.1 CHAP.48, 1977.

Cinco clases (13) de inmunoglobulinas han sido descritas en el hombre. Las cadenas H, antigenicamente diferentes son designadas como  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ , correspondiendo a las clases de inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE respectivamente. La mayor parte de estas clases de inmunoglobulinas se han subdividido en subclases.

Por ejemplo, las moléculas humanas de IgG se dividen en cuatro subclases (cuadro 2), a saber IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, e IgG<sub>4</sub>, caracterizadas por las cadenas H  $\gamma_1$ ,  $\gamma_2$ ,  $\gamma_3$ ,  $\gamma_4$ , respectivamente. De manera semejante han sido definidas claramente dos subclases de IgA, a saber: IgA<sub>1</sub>, e IgA<sub>2</sub>, que se caracterizan por las cadenas H  $\alpha_1$ , y  $\alpha_2$ , respectivamente. Los estudios preliminares mediante el mapeo de péptidos y la actividad de fijación del complemento indican la existencia de cuando menos dos subclases de IgM, a saber: IgM<sub>1</sub> e IgM<sub>2</sub>, que se caracterizan por las cadenas H  $\mu_1$ ,  $\mu_2$ , respectivamente.

#### IgG.-

En los adultos normales, la IgG humana constituye aproximadamente el 75% del total de las inmunoglobulinas del suero. Dentro de las clases de IgG, las concentraciones relativas de las cuatro subclases son aproximadamente como



## SUBCLASES DE IgG

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
NORMAL % DE IgG	64-70	23-28	4-7	3-4
Mgr/dl.	8,1	3,6	0,7	0,4
P. MOLECULAR	54.200	54.200	60.950	54.200
T $\frac{1}{2}$ DIAS	21	21	7,8	21
MARCADORES DE LINFOCITOS	SI	NO	SI	NO
REACCION CON LA PROTEINA A DEL ESTAFILOCOCO	SI	SI	NO	SI

TOMADO DE KYLE R.A.: MAYO CLIN. PROC., NOV. 1978

sigue:  $IgG_1$  60-70%,  $IgG_2$  14-20%,  $IgG_3$  4-8%, e  $IgG_4$  2-6%. Estas cifras, varían algo de individuo a individuo y se correlacionan con la presencia de ciertos marcadores alotípicos de la región constante ( c ) de la cadena H. Por lo tanto, la capacidad de un determinado individuo para producir anticuerpos de una u otra subclase IgG puede estar bajo control genético. Tiene un peso molecular de 150.000 y un coeficiente de sedimentación de 6-7 (cuadro./3) A un PH alcalino ( PH 8,6 ), la IgG posee la movilidad electroforética más lenta de todas las proteínas principales del suero, exceptuando al componente C 1 q del sistema del complemento. Esta propiedad facilita el aislamiento de IgG mediante cromatografía de intercambio iónico en las columnas de dietilaminoetilcelulosa.

Algunos anticuerpos frente a bacterias y virus son de la clase IgG. Agentes reductores tales como el mercaptoetanol rompen los enlaces disulfuro de las cadenas polipeptídicas de la IgG. Si la proteína reducida es alquilada con iodoacetamida y fraccionada en un solvente (tal como guanidina ó urea), capaz de disociar los enlaces no covalentes, dos clases de cadenas polipeptídicas pueden ser obtenidas: pesadas (H) y ligeras (L).

	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
MOVILIDAD ELECTROFORETICA	$\gamma$ ó $\alpha_2$	$\gamma$ ó $\beta$	$\gamma$	$\gamma$ ó $\beta$	$\gamma$ ó $\beta$
COEFICIENTE DE SEDIMENTACION	6,75	7-155 <sup>+</sup>	195 (75, 225, 355)	75	85
PESO MOLECULAR	150.000	170.000 500.000 <sup>+</sup>	900.000	180.000	200.000
CARBOHIDRATOS %	2,6	5 - 10	9,8	10 - 12	11
VIDA MEDIA (Dias)	23	5,8	5,1	2,8	2,3
CONCENTRACION SERICA mgr/100ml	1.000	200	120	3	0,05
INMUNOGLOBULINA TOTAL EN EL SUERO EN %	74	21	5	0,2	0,002
POOL EN EL ESPACIO INTRAVASCULAR %	45	42	76	75	51
POOL INTRAVASCULAR CATABOLIZADO/Dia %	6,7	25	18	37	89
SINTESIS NORMAL EN mgr/Kg/Dia	33	24	6,7	0,4	0,02
FIJACION DEL COMPLEMENTO	SI	NO	SI	NO	NO
TRANSFERENCIA PLACENTARIA	SI	NO	NO	NO	NO

## PROPIEDADES DE LAS INMUNOGLOBULINAS HUMANAS.

TOMADO DE KYLE R.A., BIEGER R.C., GLEICH G.L. : DIAGNOSIS OF SYNDROMES ASSOCIATED WITH HYPERGLOBULINEMIA. MED. CLIN. NORTH. AM. 54 :918, 1970

### CADENAS PESADAS.-

En cada molécula de inmunoglobulina, las cadenas pesadas son de la misma clase, y las cadenas ligeras son o bien K o bien  $\lambda$ . Cada cadena pesada (IgG), tiene un peso molecular de 55.000 y está formada por 440-450 aminoácidos. Cada cadena tiene una región variable (VH) en la cual algunos aminoácidos son sustituidos, lo que hace a cada cadena diferente de las demás y una región constante (CH) en la cual hay pocas diferencias con las otras regiones constantes de la cadena. La región variable de cada cadena pesada está formada por aproximadamente 110 aminoácidos y constituye la porción aminoterminal de la cadena. La región constante de cada cadena está constituida por 310-330 aminoácidos, conteniendo tres regiones homólogas o dominantes designadas  $C\chi_1, C\chi_2, C\chi_3$ . La región homóloga  $C\chi_1$ , está en el fragmento Fd y consta de 110-220 aminoácidos. La región homóloga  $C\chi_2$ , está en el fragmento Fc y consta de 220-330 aminoácidos y la porción homóloga  $C\chi_3$ , comprende la porción carboxiterminal de la molécula. El análisis inmunológico de las proteínas del Mieloma ha desglosado cuatro subclases distintas de cadenas H de la IgG, designadas como  $IgG_1, IgG_2, IgG_3$ , e  $IgG_4$ . La vida biológica de la  $IgG_1, IgG_2$ , e  $IgG_4$  es de 21 días, mientras que la vida media de la  $IgG_3$ , es de 7 a 8 días. Aunque algunos antígenos provocan alguna

respuesta de anticuerpos dentro de las subclases de la IgG proporcional a su distribución en el suero normal, otros producen anticuerpos principalmente solo de una subclase, por ejemplo casi todos los anticuerpos frente al factor VIII encontrados en hemofílicos, en el pos-parto y en pacientes ancianos son la clase IgG<sub>4</sub>, mientras que cuando no hay predilección solo un 3 a un 4% de los anticuerpos pueden ser esta subclase (14). Los anticuerpos antiplaquetarios en la púrpura trombocitopénica idiopática son de la clase IgG e IgG<sub>1</sub> y de la IgG fijada al complemento a través de la vía clásica. La subclase IgG<sub>4</sub> no fija complemento.

#### CADENAS LIGERAS.-

Historicamente las cadenas ligeras fueron encontradas primero, cuando MacIntire (15) y Henry Bence-Jones (16) notaron que la orina de un paciente con Mieloma Múltiple precipitaba cuando se calentaba, se aclaraba cuando hervía, pero volvía a precipitar cuando se enfriaba. Cien años más tarde, se encontró que estas proteínas urinarias con esta propiedad, eran los componentes de la cadena ligera de la molécula inmunoglobulínica. En 1.962 Edelman y Gally (17) demostraron que en las cadenas ligeras separadas del suero de una proteína IgG mielomatosa tenía análogas propiedades a la proteína de Bence-Jones de la orina del mismo

paciente. Las cadenas ligeras tienen un peso molecular de 22.500 Daltons y contienen de 210-220. Dos grupos distintos de proteína de Bence-Jones (grupo I, grupo II) fueron reconocidos por Bayne-Jones y Wilson (18) en 1.922. Las dos clases principales son ahora designadas Kappa ( K ) y Lambda (  $\lambda$  ) (19). Alrededor del 70% de las proteínas séricas IgG monoclonales, son del tipo K y alrededor del 30% son del tipo  $\lambda$  . Los pacientes con Macroglobulinemia poseen el 80% del tipo K y en mieloma IgD el 90% de las cadenas ligeras son del tipo  $\lambda$  .

El análisis de la secuencia de los aminoácidos en las cadenas ligeras, ha demostrado regiones constantes y regiones variables. La región de la cadena ligera desde el aminoácido número 107 a la posición carboxiterminal 210-220, es muy similar en cadenas ligeras del mismo tipo ( K o  $\lambda$  ), y ha sido designado como la región constante ( $C_L$ ) aunque sustituciones de aminoácidos han sido encontradas en posiciones diferentes en la región constante de la cadena humana (20). La región desde el amino ( $NH_2$ ) terminal (posición 1) hasta aproximadamente el aminoácido número 107 es diferente en cada cadena ligera y por eso es llamada región variable ( $V_L$ ). La mitad variable de la cadena ligera, contiene las características de solubilidad térmica específicas de las proteínas de Bence-Jones (21). La diferencia

de aminoácidos en las porciones constantes de las cadenas ligeras, pueden ser relacionadas con ciertos marcadores genéticos. En las cadenas K si el aminoácido leucina está en la posición número 191, la proteína es denominada  $Inv_1$  o  $Inv_2$ , mientras que si la valina se encuentra en esta posición citada en lugar de la leucina, la proteína resultante es denominada  $Inv_3$ . En contraste, no han sido identificados factores genéticos para las cadenas humanas. Los marcadores isotópicos en las cadenas ligeras incluyen  $Oz+si$ , la lisina está en posición número 193 y  $Oz$  - si la arginina está presente en la posición número 193. Otros marcadores en las cadenas ligeras han sido designados  $Kern+$  cuando la glicina está presente en la posición número 156 y  $Kern$  - cuando la serina está presente en la posición número 156. Otra variante de cadena ligera denominada  $Mog$  posee treonina en lugar de glicina en la posición número 103 (22) (23). Los estudios de secuencia de aminoácidos, han revelado cuatro grupos básicos de cadena ligera K, designados  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  y  $K_4$  (24). La frecuencia de aparición de cada uno de estos grupos de cadena ligera K en las cadenas ligeras K monoclonales es aproximadamente 60,10,28 y 2%, respectivamente; como uno puede pensar, esto refleja la proporción de cadenas ligeras  $K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$  y  $K_4$  en las inmunoglobulinas del suero normal (25). Las cadenas ligeras  $\lambda$  no han sido delineadas, pero cinco subclases de cadenas ligeras  $\lambda$  han sido referidas.

Las proteínas de Bence-Jones son sintetizadas de nuevo y no son productos de degradación de la molécula inmunoglobulínica completa del suero. Las cadenas ligeras, se sabe que son catabolizadas por la célula tubular renal. Primariamente, las cadenas ligeras K se encuentran de forma monomérica (peso molecular 22.500), pero pueden existir como Dímeros o como una mezcla de monómeros y Dímeros, mientras que las proteínas  $\lambda$ , aparecen como Dímeros con enlace covalente (peso molecular 45.000) a través de su residuo Cisteínico (26). Además, las cadenas ligeras K precipitan máximamente sobre un estrecho margen de PH mayor que el de las cadenas ligeras  $\lambda$ . (27).

#### FRAGMENTOS Fab yFc.-

El tratamiento de la IgG con el enzima proteolítico papaina rompe a esta molécula en tres piezas: dos fragmentos Fab llamados así, porque poseen actividad de combinación con el antígeno y un fragmento Fc, llamado así, porque en ciertas especies puede ser cristalizado. Cada fragmento Fab (peso molecular 52.000), está formado por la porción aminoterminal de la cadena pesada H y una cadena ligera completa. Tres regiones de hipervariabilidad han sido identificadas en  $V_L$ : posiciones 24 a 34, 50 a 56 y 89 a 97 (28). Esta hipervariabilidad y la existencia de regiones



hipervariables similares en la porción variable de la cadena pesada  $H(V_H)$  en posiciones 30 a 37, 51 a 68, 84 a 91 y 101 a 110 (29), permite la formación de sitios de combinación diferente de antígeno.

El fragmento Fc consta de la porción carboxiterminal de ambas cadenas pesadas, las cuales están unidas entre si por enlaces disulfuro. Su peso molecular es de 48.000. Las actividades biológicas del fragmento Fc incluyen: fijación del complemento, anafilaxia cutanea pasiva, unión con el factor reumatoide, unión con los receptores de macrófagos y linfocitos, reacción con la proteína A estafilocócica y transferencia a través de la placenta. La especificidad isotópica (para cadenas  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$ , y  $\epsilon$ ) reside en el fragmento Fc. El fragmento Fc no tiene actividad de anticuerpo.

#### FACTORES Gm.-

Los factores genéticos que están asociados a la IgG y están presentes sobre la cadena  $\gamma$  son llamados factores Gm o determinantes (30). Si un hematíe Rh - se recubre con un anticuerpo incompleto Rh, la adición de suero reumatoide (antiglobulina IgG), produce aglutinación. El suero que previene la aglutinación de esto, es llamado Gm-.

Por alteración de la cubierta del hematíe y el suero aglutinante, más de 20 factores Gm pueden ser distinguidos. Factores Gm individuales están asociados con subclases individuales de IgG; hay numerosos determinantes Gm sobre IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub> y algunos sobre las otras dos subclases.

### IgA.-

Dos cadenas pesadas alfa ( $\alpha$ ) y dos cadenas ligeras, ambas K o  $\lambda$  forman la molécula de inmunoglobulina IgA (31). (fig. 2). Tiene un peso molecular de 170.000 y un coeficiente de sedimentación de 7S, pero también tiene una gran propensión para formar polimeros con coeficiente de sedimentación de 9S a 15S. Su índice catabólico es de 5,8 días, siendo mayor que el de la IgG. Alrededor del 90% de las proteínas IgA monoclonales del suero son del tipo K. La IgA puede fijar los últimos componentes del complemento, empezando por el C<sub>3</sub> (via alterna). Hay dos subgrupos de cadena pesada  $\alpha$  :  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  resultando en IgA<sub>1</sub> e IgA<sub>2</sub>. Casi el 95% de las proteínas de IgA monoclonales son de la clase IgA<sub>1</sub>. Las moléculas de IgA<sub>2</sub> son únicas entre las inmunoglobulinas ya que sus cadenas ligeras están unidas a las cadenas pesadas  $\alpha_2$  por fuerza no covalentes.

La IgA secretora también llamada SIgA ( fig. 3 ),

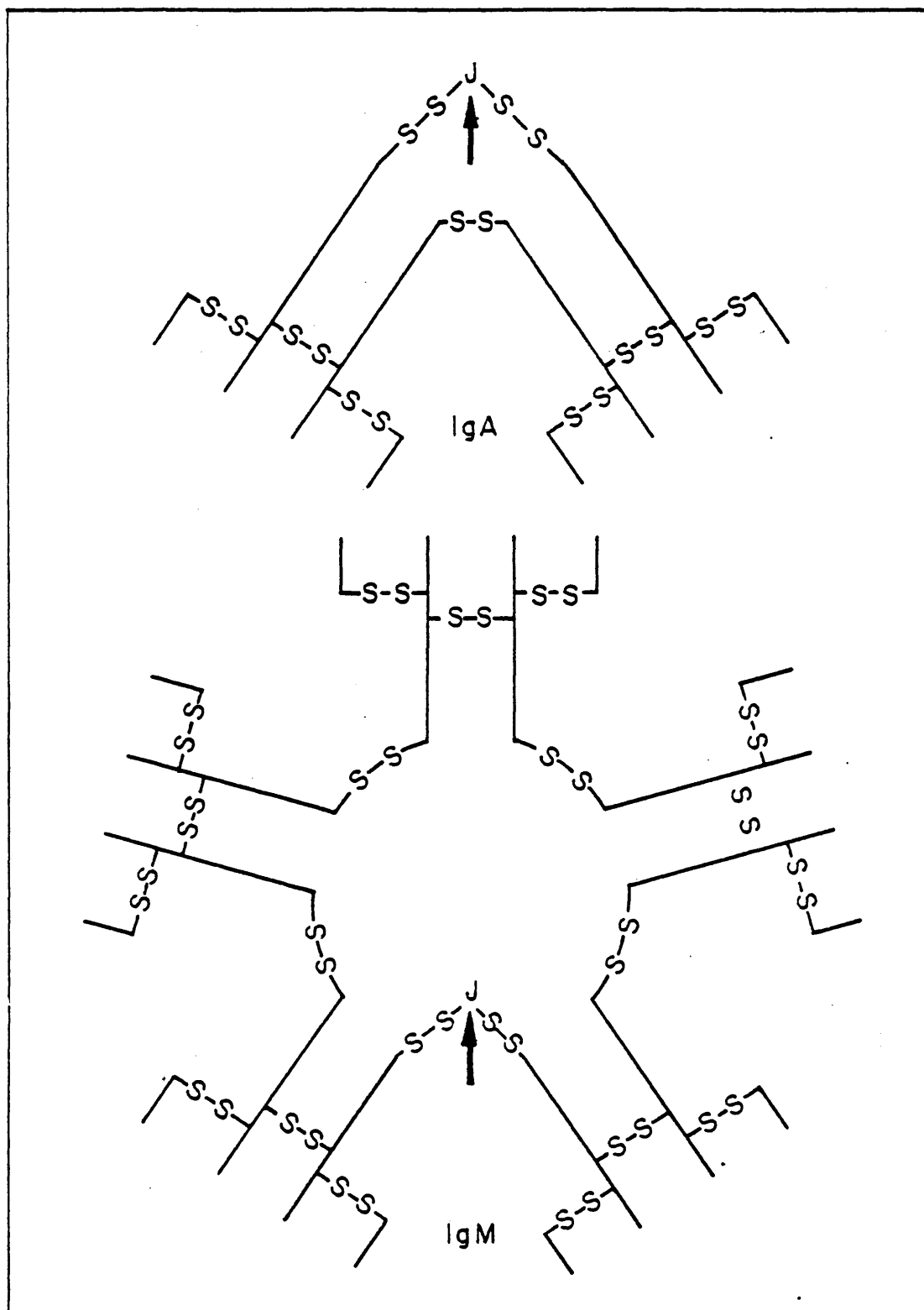


FIG. 2.- MODELO DE UNION DE LA PIEZA J A LOS MONOMEROS DE IgA e IgM PARA DAR LUGAR A LA POLIMERIZACION.

TOMADO DE KOSHLAND M.: STRUCTURE AND FUNCTION OF THE J CHAIN. ADV. INMUNOL. 20,41, 1975.

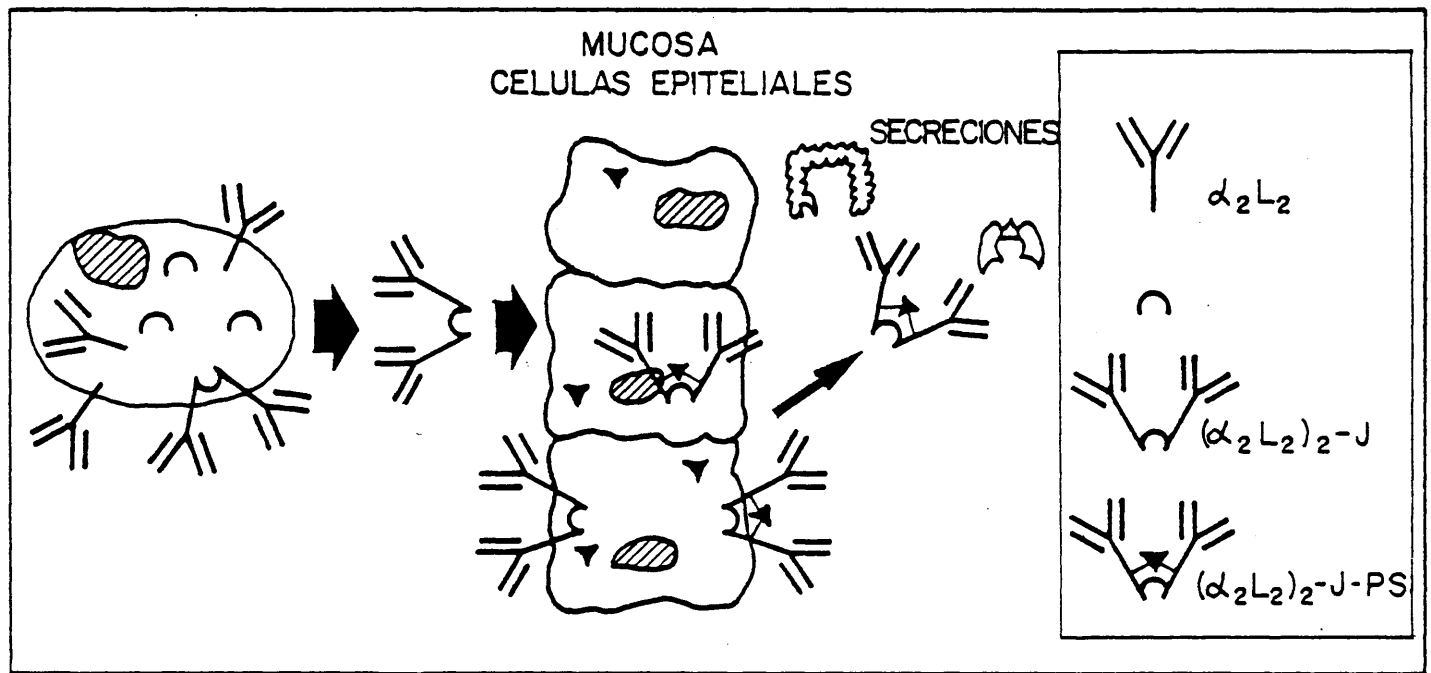


FIG.3 - SINTESIS DE IgA, CON ESPECIAL ATENCION A LA IgA SECRETORA.

TOMADO DE POGER M., LAMM. M.: LOCALIZATION OF FREE AND BOUND SECRETORY COMPONENT IN HUMAN INTESTINAL EPITHELIAL CELLS. A MODEL FOR THE ASSEMBLY OF SECRETORY IgA. JOURN. EXP. MED, 139,629, 1974.

se encuentra en altas concentraciones en las secreciones de algunas glándulas del tracto respiratorio y tracto gastrointestinal así como en las lágrimas, calostro y orina. La SIgA tiene un coeficiente de sedimentación de 11S y un peso molecular de 390.000. Está formada por dos moléculas de IgA unidas por puentes de disulfuro a una Glicoproteína (peso molecular 60.000) llamada pieza secretora o pieza S. La pieza secretora es sintetizada en las células epiteliales de la mucosa y aumenta la resistencia de la molécula contra la digestión por tripsina y pepsina. La SIgA posee actividad antibacteriana y tiene efecto neutralizante sobre la replicación viral (32). La producción de IgA comienza cuatro semanas después del nacimiento y alcanza el nivel del adulto a partir del primer año de vida. No existen cambios significativos en la concentración de la IgA durante la infancia.

#### CADENA J.-

La cadena J es una no inmunoglobulina con un peso molecular de 15.000 (33), está unida por puentes de disulfuro a la porción Fc de la cadena pesada y puede formar dímeros o polímeros de IgA así como la estructura pentamérica de la IgM. Nunca es encontrada en la IgG o en los monómeros de IgA, pero está presente en las células del mie-

loma secretoras de IgG monomérica. Solo una cadena J está presente en cada polímero de IgA o en cada pentámero de IgM. La cadena J de la IgM es idéntica a la cadena J de la IgA.

### IgM.-

La molécula de IgM está compuesta por subunidades ligadas por puentes disulfuro (34). La cadena pesada  $\mu$  de la IgM tiene un peso molecular aproximado de 70.000; las subunidades compuestas de dos cadenas H y dos cadenas L tienen cada una un peso molecular de 180.000-190.000. Puesto que el peso molecular de la IgM es aproximadamente de 900.000 es evidente que está compuesta de 5 subunidades. La cadena  $\mu$  recientemente secuenciada, consta de una porción variable ( $V_H$ ) y cuatro porciones constantes ( $C\mu_1, C\mu_2, C\mu_3$  y  $C\mu_4$ ) (35). Aunque la IgM tiene un coeficiente de sedimentación de 22S (compuestos de dímeros en la molécula 19S) y 35S. IgM de bajo peso molecular (coeficiente de sedimentación 7S) ha sido encontrada en pacientes con varias situaciones patológicas, incluyendo L. E. S., macroglobulinemia, desórdenes linfoproliferativos y cirrosis (36).

Mediante el microscopio electrónico se ha demostrado que la IgM tiene una estructura similar a una araña (fig. 2.), con un cuerpo central donde se encuentra la por-

ción Fc junto con la cadena J y unas patas constituidas por los fragmentos Fab. Las subclases de la cadena  $\mu$  han sido reportadas por algunos laboratorios, pero hasta el momento actual, las subclases específicas de la IgM no son reconocidas. Los anticuerpos IgM son los primeros producidos en una respuesta inmunitaria urinaria y fija rápidamente el complemento sérico. Crioglutininas, isoaglutininas, factor reumatoide, anticuerpo heterófilo y anticuerpo de Wasserman así como también anticuerpo anti-varias bacterias son de la clase IgM. La síntesis rápida de la IgM comienza en los primeros días del nacimiento y los niveles séricos del adulto son alcanzados aproximadamente hacia el primer año de la vida. La concentración de IgM, descien- de alrededor de la sexta década de la vida. Aproximadamente el 80% de las proteínas monoclonales IgM son del tipo K.

#### IgD.-

En 1.965, Rowe y Fahey (37), encontraron una proteína del Mieloma conteniendo una cadena pesada distinta a la de las otras inmunoglobulinas. Esta clase llamada IgD está presente en una distribución trimodal con módulos de 0,25 U.I./ml y 35 U.I./ml. Esta distribución sugiere que los niveles de la IgD en personas normales están estrechamente influenciados por la herencia a través de un

mecanismo monogénico ( 38 ). La IgD es rápidamente catabolizada y tiene una vida media en el suero de 2,8 días. Alrededor del 75% de la IgD es intravascular, una distribución que puede ser debida a irregularidades en la forma de la molécula. Aunque la actividad de combinación con el antígeno asociada con la IgD han sido reportadas con Tiroglobulina., antígenos nucleares e insulina, las funciones de la molécula que son atribuibles a las cadenas pesadas siguen permaneciendo oscuras. La IgD se encuentra a menudo sobre la superficie del linfocito ( 39 ). Ya que el 90% de la IgD Mielomatosa es del tipo  $\lambda$  en contraste con el predominio de la IgD tipo K encontrada sobre la superficie del Linfocito, se ha sugerido que la IgD del suero y la IgD unida a la célula puede representar dos subclases distintas de IgD ( 40 ).

#### IgE.-

Esta inmunoglobulina ha sido purificada del suero de los pacientes alérgicos ( 41 ). No más de 12 casos de Mieloma IgE han sido publicados en la literatura mundial. Posee un peso molecular de 200.000 y un coeficiente de sedimentación de 8S. La combinación de una vida media muy corta (2-3 días) y un índice muy bajo de síntesis, resultan, en una concentración sérica extremadamente baja en



las personas normales. La IgE media la reacción alérgica asociada con reagénicos y se une a los basófilos. La IgE es fijada sobre la célula blanco normal y la histamina es liberada del interior de la célula cuando la IgE fijada a la célula reacciona con el alérgeno. En contraste con la IgG la IgA e IgM la inmunoglobulina IgE posee un definido catabolismo extravascular (42). Algunos pacientes con asma intrínseco y fiebre del heno tienen una concentración elevada de IgE (43).

#### 1b.- BIOSÍNTESIS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Gran número de células de diferentes procedencias han sido empleadas para el estudio de la biosíntesis de las inmunoglobulinas. Estas incluyen células en cultivo de corta duración, provenientes, de ganglios linfáticos, bazo, médula ósea o sangre periférica de sujetos humanos o animales.

La mayor parte de los anticuerpos se producen en las fases  $G_1$  tardía e inicial S del ciclo de reproducción de la célula (Fig.4). La síntesis, puede empezar más precozmente en la fase  $G_1$  de las células plasmáticas que en los linfocitos. De manera semejante puede persistir por más tiempo en la fase S de las células plasmáticas. La inmunoglobulina sintetizada por un linfocito en el cultivo de cé

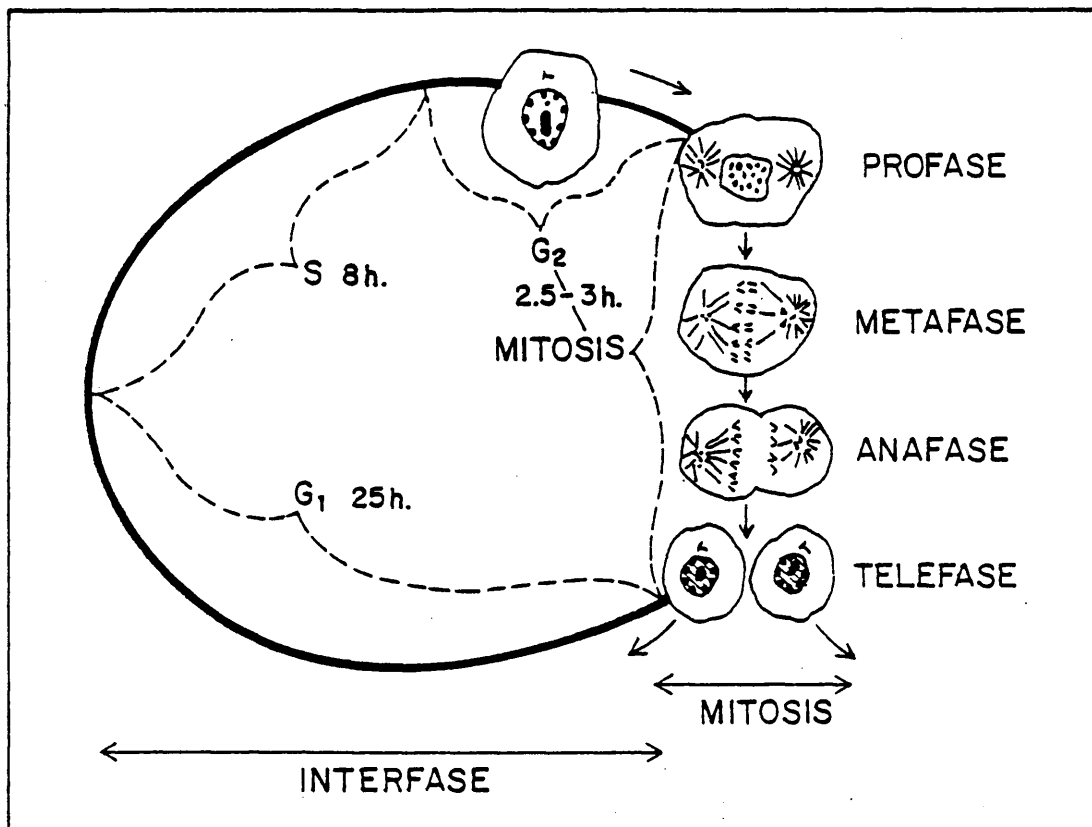


FIG. 4.- FASES DEL CICLO CELULAR.

TOMADO DE YOUNG : J. CELL BIOL 14 : 357, 1962

lulas puede comprender solo el 5% del total de proteínas sintetizadas por la célula, mientras que en una célula plasmática puede abarcar hasta el 43% de las proteínas sintetizadas en un lapso corto de tiempo. Esta correlación entre la cantidad de inmunoglobulina sintetizada y el tipo de célula, está directamente relacionada con la demostración histológica de un Retículo Endoplásmico mal desarrollado en los Linfocitos ( 44 ) y de un Retículo Endoplásmico granuloso marcadamente desarrollado en las células plasmáticas.

La síntesis de las proteínas específicas es la función principal y probablemente la única de las células plasmáticas. La abundancia de RNA citoplásmico, explica la basofilia y la pironinofilia características de las células plasmáticas y el aparato de Golgi muy desarrollado es causa del típico halo paranuclear ó zona clara. El estudio de células plasmáticas por microscopía electrónica, ha demostrado que el RNA citoplásmico está organizado en forma de gránulos (ribosomas), unidos a una red bien desarrollada de Retículo Endoplásmico. Todas estas características estructurales ahora se relacionan con las funciones complejas de síntesis y secreción de proteínas. El núcleo de la célula plasmática con su cromatina característicamente aglomerada ( DNA ), contiene la información genética que rige la estructura de la proteína al ser sintetizada.

La síntesis de RNA ribosómico tiene lugar sobre un DNA que no está en el nucleolo: El DNA dirige la síntesis del RNAm apropiado. El RNAm para una cadena L ha sido medido como 13 S en un sistema experimental. Es mayor, de lo que podría esperarse para la síntesis de una cadena polipeptídica con un peso molecular de 23.000. Sin embargo, se ha encontrado que la mayoría de los RNAm de mamíferos contienen un largo tramo de ácido poliadenílico en un extremo del RNAm. La función de este ácido poliadenílico es desconocida. Es posible usar el RNAm en un sistema exento de células, siempre que los ribosomas, los factores de iniciación y de terminación, RNAt y las enzimas sintetizadoras de péptidos se encuentran disponibles. Este sistema puede sintetizar proteínas, pero es verosímil, que la máxima síntesis proteica, se pueda lograr, solo cuando sea usado el RNAm con su aparato sintético homólogo correspondiente.

La síntesis de las inmunoglobulinas ( 45 ), es llevada a cabo realmente por el RNAt, el cual añade aminoácidos de manera sucesiva al extremo en crecimiento de la cadena polipeptídica trabajando desde el extremo aminoterminal al carboxi-terminal. Esta síntesis, ocurre sobre los ribosomas (Fig.5). Ribosomas diferentes son usados para la síntesis de la cadena H (270-300S) y la cadena L (190-200S). En las células plasmáticas, la síntesis proteica está aso-

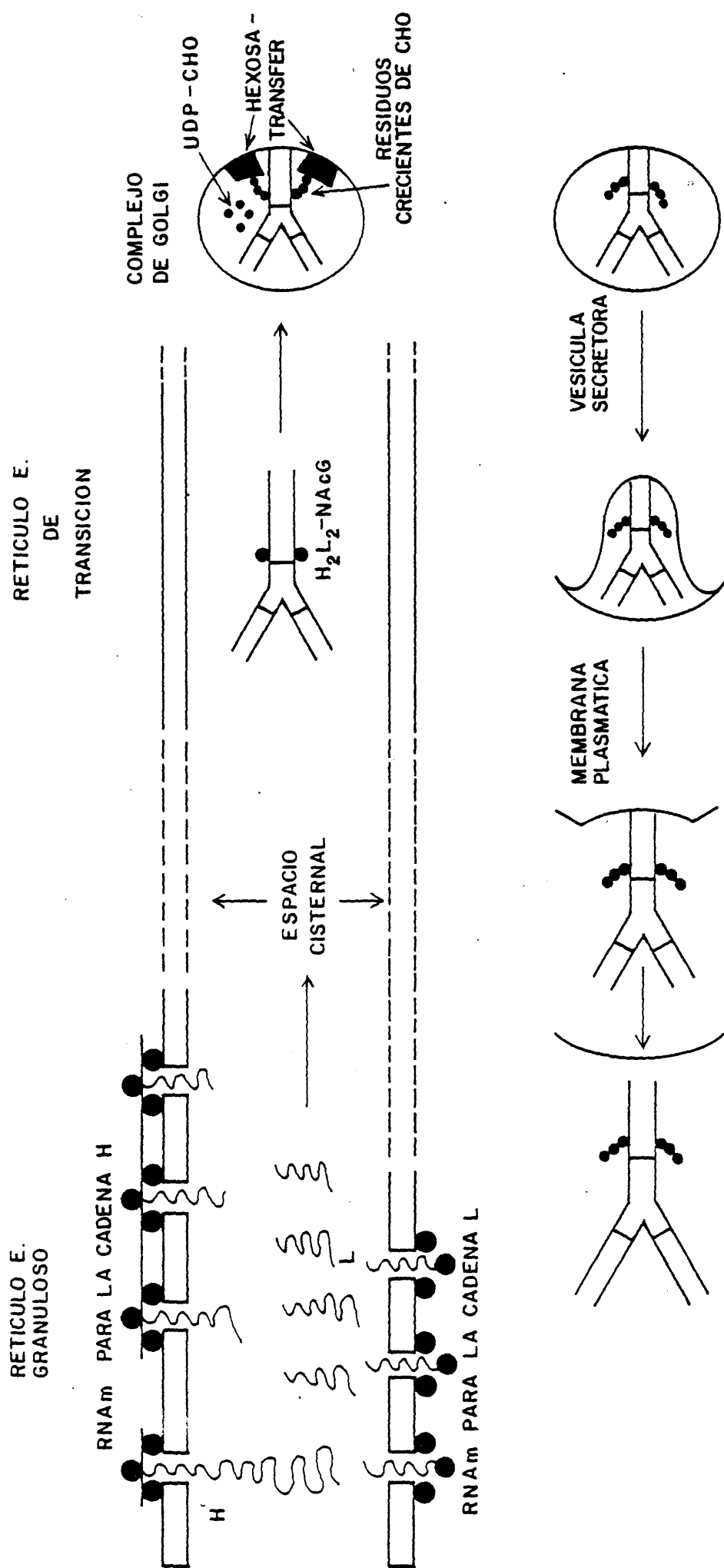


FIG. 5.- REPRESENTACION DIAGRAMATICA DE LA BIOSINTESIS Y ENSAMBLADO DE UNA MOLECULA DE INMUNOGLOBULINA.

TOMADO DE HUGH FUDENBERG H : BASIC CLINICAL IMMUNOLOGY CHAP.9 , 1976

ciada con agregados de ribosomas fijos a la membrana en el Retículo Endoplásmico granuloso. En los Linfocitos, es más comun observarla en conexión con ribosomas lisos o libres. Como sucede con la síntesis proteica en general, la inmunoglobulina recién sintetizada es puesta en libertad de manera gradual por los ribosomas, comenzando por la primera parte de la cadena polipeptídica por sintetizar.

Las diferentes clases de inmunoglobulinas, probablemente sean sintetizadas por células diferentes. No se ha excluido la posibilidad de que una sola célula, según condiciones, sintetizar dos tipos de inmunoglobulinas diferentes simultánea o sucesivamente, pero la mayor parte de los estudios indican la síntesis de solamente un tipo de inmunoglobulina por cada célula. Estudios inmunohistoquímicos (46), utilizando antisueros monoespecificos marcados con fluoresceína para cada uno de los grupos de inmunoglobulinas, se han demostrado generalmente la síntesis de inmunoglobulina IgG en las células plasmáticas maduras típicas de tipo Marshall. La inmunoglobulina IgA ha sido localizada su síntesis en células con citoplasma vacuolado y relativamente más abundante, pero que todavía conserva las características principales de la célula plasmática: la síntesis de la inmunoglobulina IgM se ha relacionado con una población de células algo menores, con relativa-

mente menos citoplasma; éstas células han sido clasificadas de forma diversa como células plasmáticas linfocitoides, linfocitos plasmocitoides, células plasmáticas atípicas y linfocitos atípicos. Células plasmáticas ovoides típicas, con núcleos excéntricos, cromatina aglomerada, nucleolos prominentes, halo paranuclear y citoplasma basófilo, se hayan ampliamente distribuidas en ganglios, linfáticos, bazo, médula ósea, pared intestinal y otros tejidos y órganos. Constituyen menos del 5% de la población normal de la médula ósea.

#### 1c.-ENSAMBLADO Y SECRECION DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Las cadenas H y las cadenas L son sintetizadas en cantidades equimolares ó con un exceso pequeño o moderado de cadenas L. El ensamblado inicial (45) (47) de la cadena L con la cadena H puede ocurrir mientras la cadena H se encuentra todavía sobre su ribosoma. Sin embargo, la mayor parte del ensamblado ocurre, por lo general, después de que las cadenas han sido liberadas de sus ribosomas en las cisternas del Retículo Endoplásmico. Varios factores afectan el ensamblado de las inmunoglobulinas, incluyendo los siguientes:

- 1) La introducción y ajuste entre las cadenas H

y L recién sintetizadas.

2) El número relativo de cadenas.

3) La concentración de cadenas H y L en los sitios individuales en las cisternas, y

4) La velocidad de formación de los enlaces disulfuro. Se puede deducir que el ensamblado se logra con mayor rapidez si se encuentran cantidades equimolares de cadenas H y L complementarias en concentración equilibrada en las cisternas. La velocidad de formación de los enlaces disulfuro, es influida por la proximidad de las cadenas, la disponibilidad de enzimas para el enlace disulfuro y la presencia de grupos sulfhidrilico activos en otras proteínas distintas a las inmunoglobulinas. El enlace disulfuro que une las cadenas pesadas H a las cadenas ligeras L. Las vías que han sido descritas para el ensamblado covalente de las inmunoglobulinas las representaremos en el (cuadro) nº (4).

El enlace disulfuro inicial en las 3 primeras vías se encuentra entre las cadenas H y las cadenas L: en la vía nº 4 dicho enlace se encuentra entre las cadenas H y la vía nº 5, el enlace se encuentra entre las cadenas L. La vía nº 5, por lo general, no es una vía significativa en la biosíntesis normal, pero es importante en la patogenia del exceso de dímeros de cadenas L monoclonales secre-



---

1)	$H + L$	$\longrightarrow$	$HL$
	$HL + HL$	$\longrightarrow$	$H_2L_2$
2)	$H + L$	$\longrightarrow$	$HL$
	$HL + H$	$\longrightarrow$	$H_2L$
	$H_2L + L$	$\longrightarrow$	$H_2L_2$
3)	$H + L$	$\longrightarrow$	$HL$
	$HL + L$	$\longrightarrow$	$HL_2$
	$HL_2 + H$	$\longrightarrow$	$H_2L_2$
4)	$H + H$	$\longrightarrow$	$H_2$
	$H_2 + L$	$\longrightarrow$	$H_2L$
	$H_2L + L$	$\longrightarrow$	$H_2L_2$
5)	$L + L$	$\longrightarrow$	$L_2$
	$L_2 + H$	$\longrightarrow$	$HL_2$
	$HL_2 + H$	$\longrightarrow$	$H_2L_2$

---

VIAS DE ENSAMBLADO COVALENTE DURANTE  
LA BIOSINTESIS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.

TOMADO DE HUGH FUNDERBERG H: BASIC CLINICAL  
IMMUNOLOGY CHAP.9 , 1976.

tados. No hay una sola vía de ensamblado que opere para todas las células o para todas las inmunoglobulinas de una clase cualquiera.

Las cadenas L libres pueden ser secretadas antes de 20 minutos después de su síntesis. Las IgG completamente ensambladas pueden ser secretadas entre 30 y 40 minutos después del comienzo de su síntesis. Un factor variable es la velocidad de formación del enlace disulfuro, pues para que este se produzca se necesitan aproximadamente de 2 a 20 minutos.

Las cadenas  $\mu$  libres, pueden ser descubiertas intracelularmente después de liberarse de los ribosomas. Las nuevas cadenas se combinan con las cadenas L para formar la subunidad monomera 7S ( $\mu_2 L_2$ ). Esta subunidad es la forma intracelular principal de la IgM en los tumores murinos de células plasmáticas (48). En un caso, la molécula del pentámero 19S fue la forma principal de IgM intracelular. La velocidad de síntesis de la IgM es aproximadamente de 80 moléculas/células/segundo. Las células B de los ratones atímicos (49) "despojados", pueden ser estimuladas por la concavalina A y fijada a Sepharrosa para sintetizar anticuerpos. En esta situación, un incremento en la síntesis intracelular de proteínas, incluyendo la

IgM se puede demostrar antes de 10-14 horas y la iniciación de la secreción en menos de 24-30 horas. La forma principal de la IgM en este experimento fue el monómero 7S con pequeñas cantidades de IgM 19S polimerizada. La IgM 7S contiene solo pequeñas cantidades de carbohidrato, mientras que la IgM 19S contiene el complemento entero de oligosacáridos. En contraste con los tumores murinos de células plasmáticas, las células de los enfermos con Macroglobulinemia, por lo general, contiene la mayor parte de IgM intracelular en forma de 19S. En la mayoría de los sistemas, estudiados la IgM aparece en el medio en su forma inicial 19S; por lo tanto, la polimeriización parece ser un proceso que incluye la adición de cadenas J y grupos terminales de carbohidratos inmediatamente antes de su liberación de la célula o coincidiendo con aquella.

La subclase principal de las IgA en el hombre es sintetizada de manera análoga a la de la IgG, es decir  $H_2L_2$  con enlaces disulfuro entre las cadenas H y las cadenas L y entre las dos cadenas H. Parece que HL constituye el principal precursor en el ensamblado. La segunda subclase de IgA no tiene enlaces disulfuro entre las cadenas H y las cadenas L. En su lugar, las cadenas L están ligadas entre sí por covalencia.

Se ha descrito una tercera subclase en la cual

se forman enlaces HL pero no existen enlaces HH, con el resultado, de que la IgA sérica existe en una forma ( $HL_2$ ) no covalentemente enlazada que se disocia con facilidad en presencia de agentes desnaturalizantes. La evidencia sugiere que aún cuando se observa polimerización molecular en el suero de la IgA, la principal forma intracelular de IgA es el monómero  $H_2L_2$ , es probable, que la polimerización y adición de la cadena J ocurra antes de la secreción por la célula.

Los carbohidratos son añadidos a las moléculas de inmunoglobulinas en una sucesión ordenada comenzando con la N-acetilglucosamina la cual enlaza el oligosacárido al residuo apropiado de aminoácidos en la cadena polipeptídica. Las hexosatransferasas anaden los azucares apropiados a la cadena de carbohidratos; los carbohidratos añadidos incluyen los grupos manosa, galactosa, ácido siálico y finalmente fucosa. Aunque por lo general, se considera que el carbohidrato facilita la secreción inicial de las moléculas de inmunoglobulinas por la célula y su contacto subsiguiente con las membranas, el carbohidrato no resulta esencial para la secreción por la célula ya que las cadenas L que no poseen carbohidratos, pueden ser excretadas solas.

Se ha logrado penetrar considerablemente en el control genético de la síntesis de las inmunoglobulinas

mediante el estudio de los tumores humanos que sintetizan formas mutantes de inmunoglobulinas. Estas pueden ser enfermedad de cadenas pesadas o ejemplos de Mieloma Múltiple, en los cuales, solo se sintetizan fragmentos de cadenas L. Con el estudio de las células plasmáticas murinas, que experimentan mutaciones ( 49 ) se han obtenido considerables conocimientos sobre los mecanismos de la biosíntesis de las inmunoglobulinas. Tales mutaciones suceden de manera espontánea in vivo, pero los estudios de laboratorio han identificado las células que experimentan mutación, medido su frecuencia y definido los factores que quizás influyan sobre la velocidad de las mutaciones. Las variantes son bloqueadas en diferentes etapas de la síntesis ensamblado y secreción de las inmunoglobulinas y estos bloqueos afectan más comunmente las cadenas L.

En los tumores murinos de células plasmáticas, el medicamento citotóxico Melfalan se acompañó de las tasas más altas de mutación. Rara vez se encuentra un enfermo con células plasmáticas anormales y otras manifestaciones de Mieloma Múltiple, en quien no se descubran proteínas anormales en el suero ó en la orina. Los estudios con inmunofluorescencia pueden descubrir las inmunoglobulinas intercelulares en estas células plasmáticas. Parece ser, que existe un defecto en la biosíntesis en estos enfermos

que, da por resultado la producción de una forma de inmunoglobulina que no es secretada por la célula.

#### 1d.- DESORDENES EN LA SÍNTESIS DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

Los desórdenes en la síntesis de las inmunoglobulinas están expuestos de forma esquemática en el ( cuadro nº 5 ).

#### 1e.- METABOLISMO DE LAS INMUNOGLOBULINAS.-

La estimulación antigénica proveniente de muchas fuentes es un factor clave para la síntesis continua de inmunoglobulinas en los sujetos normales. En los animales criados en medios exentos de microorganismos se encuentran tasas muy bajas de síntesis de inmunoglobulinas. En el otro extremo, se encuentra aumento de la síntesis de las inmunoglobulinas en los enfermos con infección crónica. Aunque es obvio que la estimulación antigénica está asociada con el aumento de la síntesis de las inmunoglobulinas, la manera como un mecanismo de refección controla esta síntesis, es desconocida. A medida que la infección va desapareciendo, el patrón normal para la síntesis de las inmunoglobulinas disminuye de manera gradual. Posibles indicios de estos mecanismos de control son proporcionados por los estudios

## DESORDEN

## ANORMALIDAD SERICA

---

I)	SINTESIS EQUIMOLAR: $H=L$	—————→	PROTEINA HOMOGenea EN SUERO
II)	SINTESIS NO EQUIMOLAR: $L>H$		
	Ⓐ EXCESO DE L	—————→	PROTEINA HOMOGenea EN SUERO + PROTEINA DE BENCE - JONES
	Ⓑ SOLO L	—————→	PROTEINA DE BENCE - JONES
III)	NO SINTESIS: $H + L$	—————→	HIPOGAMMAGLOBULINEMIA
IV)	MUTACIONES ESTRUCTURALES:		
	Ⓐ ENF. CADENAS PESADAS	—————→	BANDA O PICO EN LA E.F. SERICA
	Ⓑ $1/2$ MOLECULAS	—————→	PROTEINA HOMOGenea EN SUERO
	Ⓒ MIELOMAS CON DELECIION	—————→	PROTEINA HOMOGenea EN SUERO

---

DESORDENES EN LA SINTESIS DE LAS Igs.

AUTOR: E.C. FRANKLIN , 1977

recientes que demuestran factores de bajo peso molecular, asociados con ciertos tipos de células plasmáticas malignas o de linfocitos. Estos factores parecen suprimir la síntesis de inmunoglobulinas normales.

Ni los factores de control, ni los sitios reales del catabolismo de las inmunoglobulinas (80) (51) han sido establecidos de manera positiva. Parece claro que es esencial una región Fc intacta para su catabolismo normal. En los estudios de transporte de las moléculas de IgG el fragmento Fc podría inhibir competitivamente el transporte de moléculas completas de IgG. Se desconoce que zona del fragmento Fc controla el catabolismo de toda la molécula.

La eliminación de los grupos de ácido siálico o la reducción de los enlaces disulfuro intercatenarios no parecen alterar la velocidad del catabolismo de las moléculas de IgG. Varios estudios apoyan el punto de vista de que las moléculas de inmunoglobulinas se encuentran unidas a receptores y que esta unión influye importantemente en el catabolismo de la molécula. El punto de vista principal es que la unión a estos receptores protege la inmunoglobulina de catabolismo y constituye una etapa necesaria para la captación celular específica o el transporte de la molécula unida. Por lo tanto, en esta hipótesis se piensa que



las moléculas no unidas de IgG son susceptibles de ser catabolizadas. Poco es lo que se sabe en relación a los detalles del catabolismo de las inmunoglobulinas IgA, IgD e Ig .

Las investigaciones han atribuido un papel principal al sistema digestivo en este proceso catabólico. Los receptores Fc para las IgG fueron identificados en las microvellosidades de las células de la mucosa intestinal. Se postula la existencia de receptores semejantes sobre otras membranas del organismo que requieren el transporte de las inmunoglobulinas. La IgG se transmite normalmente a través de la placenta de la madre al feto, especialmente en el tercer trimestre del embarazo siendo este, un proceso activo, ya que en muchos casos, la concentración de IgG en el suero del feto es mayor que la concentración sérica de la madre.

En los enfermos portadores de gammapatía monoclonal se encuentran aumentadas las confluencias plasmáticas y corporales de la inmunoglobulina G (IgG) y existe de la misma forma un aumento de la velocidad de la síntesis de la IgG ( 52 ). La tasa de recambio aumentó en todos los sujetos estudiados y la vida media en el plasma se halló acortada en la mayoría de los enfermos. Las concentraciones

elevadas de IgG monoclonal son debidas principalmente al aumento de su síntesis y nó a la supervivencia prolongada de la IgG con catabolismo reducido. La síntesis de IgG no se correlacionó con el diagnóstico clínico ni con la gravedad de la enfermedad en cada paciente individual.

#### IV.- MIELOMA MULTIPLE

## 1.- CONCEPTO.-

El mieloma múltiple (sinónimos: enfermedad de Kahler, plasmocitoma difuso o mielomatosis) es la forma más frecuente de discrasia de células plasmáticas.

Se caracteriza por la afectación del sistema hematopoyético, con la proliferación de las células plasmáticas y alteraciones predominantes ligadas a la infiltración de la médula ósea, aunque no exclusivas.

## 1a.- INCIDENCIA.-

La incidencia del mieloma ha aumentado aparentemente en los últimos años y las estadísticas de mortalidad muestran ahora una incidencia que oscila entre 2-3/100.000 (53-56).

En distintas clínicas de Estados Unidos y Europa, el mieloma se ve actualmente con la misma frecuencia que la enfermedad de Hodgkin y que la leucemia linfocítica crónica (53, 54, 57-59).

La mejora de las técnicas diagnóstico y probablemente el aumento absoluto del mieloma junto con las discra-

sias de células plasmáticas afines, ha contribuido al aumento aparente de la incidencia del mismo.

En estudios recientes están igualmente afectados los hombres y las mujeres, si bien en estudios anteriores había una preponderancia significativa del sexo masculino (3:1) (60,61). El cambio en la distribución de la enfermedad en los sexos no se sabe si es debida a una disminución en los hombres o a un aumento en las mujeres. (54, 57).

Se ha descrito una frecuencia relativamente más alta y un comienzo más precoz en individuos de raza negra, en comparación con las personas de raza blanca en el área de Nueva York (53).

La edad de comienzo de los síntomas del mieloma oscila entre la juventud avanzada y la vejez, con una mayor preponderancia entre los 50 y 60 años (58, 60-63).

#### 1b.- ETIOLOGIA.-

Al igual que en la mayoría de los trastornos neoplásicos, se sabe poco de los factores etiológicos. Se habla del posible papel de la inflamación crónica, las reaco

ciones crónicas de hipersensibilidad, la infección crónica, la edad y los factores hereditarios.

Con bastante frecuencia se tiene conocimiento de un traumatismo que afecta especialmente a la columna vertebral, en los meses que preceden a las manifestaciones clínicas, sin que se pueda establecer con certeza una relación de causa a efecto.

En el mieloma no se han encontrado anormalidades del cariotipo características, aunque se ha observado una gran variedad de inconstantes anormalidades cromosómicas, tales como: aneuploidismo, poliploidismo, pseudopoliploidismo y diversas anormalidades estructurales (deleciones, traslocaciones, roturas de cromátides y cromosomas gigantes). La diversidad de estas anormalidades sugiere que deben ser secundarias al estado neoplásico, más que anormalidades genéticas primarias (64-70).

#### 1c.- CARACTERISTICAS CLINICAS.-

##### MIELOMA PRESINTOMATICO ("PREMIELOMA").-

Los rasgos clínicos descritos en años anteriores son los que ahora se reconocen como características de la

enfermedad avanzada. En muchos casos el estado sintomático clínicamente patente del mieloma va precedido por un significativo periodo asintomático o presintomático y esto se ha visto mediante electroforesis del suero o de la orina, de anormalidades proteicas características de tipo monoclonal (59, 62, 71-78).

En otros casos, la primera sugerencia de una anomalía proteica de tipo monoclonal fue el hallazgo en un estudio rutinario una velocidad de sedimentación globular acelerada o una inexplicable proteinuria persistente. En todos los casos de proteinuria inexplicada se ha de considerar la posibilidad de que exista una proteinuria de Bence-Jones y practicar un análisis electroforético de las proteínas urinarias. Esto es particularmente importante por el riesgo de precipitar una anuria irreversible por pielografía intravenosa en pacientes con proteinuria de Bence-Jones (79-83).

Hasta ahora es imposible conocer la duración del periodo presintomático, pero al parecer dura 20 años o más (58, 73, 77, 84, 85).

Los motivos más habituales de la primera consulta médica son manifestaciones esqueléticas y neurológicas. Es

más raro que llamen la atención los síntomas de anemia, un síndrome hemorrágico o signos renales. A veces, lo que conduce al diagnóstico es el adelgazamiento o una afectación del estado general (86-88).

#### MANIFESTACIONES ESQUELETICAS.-

Los dolores óseos son las primeras y predominantes manifestaciones en la mayoría de los pacientes cuando el mieloma se hace sintomático. Los dolores esqueléticos inicialmente pueden ser ligeros y transitorios o repentinos y graves con dolores en la columna vertebral, costillas o extremidades a realizar un movimiento brusco o un esfuerzo. El inicio abrupto o la exacerbación del dolor generalmente indican una fractura patológica.

Según progresa la enfermedad, aparecen más y más manifestaciones radiológicas de destrucción ósea, dando lugar frecuentemente a importantes deformidades esqueléticas, sobre todo del esternón y caja torácica que acortan la columna vertebral.

Los tumores no son muy frecuentes, e incluso muy raros en los huesos largos. Se encuentran sobre todo en los Huesos planos: parrilla esternocostal, clavículas, crestas



iliacas, craneo y maxilar inferior, siendo preciso buscarlos por palpación minuciosa. Se presentan como tumores blandos subcutáneos y a veces se observa la clásica crepitación en cáscara de huevo.

En la mayoría de los pacientes aparecen en el examen inicial por rayos X múltiples lesiones osteolíticas (en "sacabocados") que aumenta el número y tamaño a medida que progresa la enfermedad. A veces las radiografías iniciales pueden ser negativas o mostrar simplemente una osteoporosis difusa sin lesiones osteolíticas. En estos casos los estudios histológicos han demostrado una infiltración difusa de los espacios medulares por células plasmáticas, con adelgazamiento general de las trabeculas óseas no detectable mediante las técnicas radiológicas habituales; posteriormente desarrollaron lesiones osteolíticas cuando la enfermedad avanzó.

A veces las manifestaciones de la columna vertebral, inicialmente con osteoporosis y más tarde aparecen con el desarrollo de un progresivo colapso vertebral, con las características deformidades "en vertebra de pescado" de los cuerpos vertebrales con depresión del esternón (pectus cavum).

Los avances significativos en el campo de la quimioterapia y en el tratamiento general del mieloma realizados en los últimos años pueden ahora, lograr la detención de la progresión de la enfermedad por muchos meses y años con control de las manifestaciones esqueléticas y de todo tipo , en la mayoría de los casos .

En algunos casos el mieloma aparece como una lesión esquelética aparentemente simple. Estas lesiones son llamadas comunmente plasmocitomas solitarios; muchos casos acaban por desarrollar una enfermedad diseminada, a pesar de que la lesión primaria sea extirpada quirúrgicamente o irradiada. Por lo que antes de calificar de "solitario" a un plasmocitoma esquelético se debe hacer un estudio cuidadoso de la médula ósea de diversos sitios alejados del mismo y además dejar un intervalo del orden de 10 años con exámenes periódicos. En los casos de plasmocitoma aparentemente solitarios casi invariablemente se pueden demostrar anomalías proteicas de tipo monoclonal.

Hay algunas descripciones del mieloma con lesiones osteoscleróticas, pero son raras. En un pequeño número de casos se ha visto recalcificación de lesiones osteolíticas después de la irradiación o de la quimioterapia efectiva. Este patrón se ha de diferenciar de aquellos con osteos

clerosis per primun (57, 89-93).

### MANIFESTACIONES CLINICAS DEBIDAS A LAS ANORMALIDADES PROTEICAS.-

En el mieloma múltiple podemos encontrar cuatro tipos de manifestaciones clínicas debidas a las anormalidades proteicas:

#### 1.- Susceptibilidad a las infecciones

En muchos casos de mieloma aparece un aumento de susceptibilidad frente a las infecciones bacterianas, particularmente frente a las neumonías neumocócicas, resultado de una alteración de la capacidad para fabricar anticuerpos (94-100).

Esto se refleja generalmente en un descenso de la concentración sérica de IgG, IgA e IgM normales independientemente del tipo de proteína monoclonal elaborada.

Otros estudios hablan de que tanto la disminución de la producción como la aceleración del catabolismo de las inmunoglobulinas contribuyen a esas deficiencias (98, 99, 101, 102).

El herpes zóster y la varicela ocurren con mayor

frecuencia en el mieloma que en otras discrasias de células plasmáticas pero aparentemente no más que la enfermedad Hodgkin y en el linfosarcoma (82, 103).

La susceptibilidad a otras infecciones víricas no está aumentada.

Estudios a cerca de rechazo de homoinjertos han demostrado un aumento significativo del tiempo de rechazo, indicando que las deficiencias inmunológicas del mieloma pueden incluir los mecanismos de inmunidad vehiculizados por células (58, 82, 99).

## 2.- Manifestaciones hemorrágicas

Habitualmente, las manifestaciones hemorrágicas son discretas en el mieloma. Las manifestaciones más habituales las constituyen las petequias, y sobre todo las equimosis, epistaxis y gingivorragias. Pero es posible que las manifestaciones hemorrágicas sean de tal intensidad que amenacen la vida del enfermo.

La trombopenia puede ser responsable, pero la cifra de plaquetas puede ser normal presentando el enfermo manifestaciones hemorrágicas. Otras veces se observan anormalidades en la hemostasia, siendo estas muy variables. Entre

otros:

- Transtorno de la hemostasia primaria con alargamiento del tiempo de sangría más de lo que debería por las cifras de plaquetas. El test de generación de trombo-plastina puede descubrir un deficit en factor plaquetario 3, siendo este intrínseco que traduce una verdadera trombopatía más que la inhibición del factor por la paraproteína, como sucede en la Macroglobulinemia de Waldenström; se han visto interacciones con diferentes factores de la coagulación, pero son muy raras.

- El deficit en factor Stuart parece ser una consecuencia de la disproteinemia; no se observa mas que en caso de amiloidosis que absorbería electivamente el factor X.

- Se ha señalado un aumento del factor VIII no es pecífica, pues se ha visto en otras afecciones.

- El alargamiento del tiempo de trombina constituye una de las anomalías más frecuentemente encontrada. En estos casos, la paraproteína puede comportarse como una antitrombina con características aproximadas a la heparina, pero más frecuentemente actúa inhibiendo la polimerización de la fibrina. En estos casos la densidad óptica del coágulo está disminuida con el fotómetro.

-Se produce también lesión de la pared capilar, por infiltración de sustancia paraamiloide o por enlentecimiento circulatorio debido a la hiperviscosidad de la sangre (104).

### 3.- Sensibilidad al frío

Esta se puede producir por globulinas monoclonales que son crioprecipitables. Estos síntomas són fenómenos de Raynaud, alteraciones circulatorias y a veces, trombosis y gangrenas incluso después de una ligera exposición al frío. (82, 105-108).

### 4.- Síndrome de hiperviscosidad

En algunos casos de mieloma múltiple con IgG monoclonal con una alta viscosidad intrínseca aparecen alteraciones circulatorias, sobre todo a nivel del sistema nervioso central y de la retina (108-112).

### DISFUNCION RENAL.-

Las manifestaciones renales del mieloma son muy frecuentes. La asociación entre la proteinuria de Bence-Jones y la alteración renal funcional ("mieloma renal"), se ha relacionado con la precipitación tubular de estas proteínas y la obstrucción debida a la formación de cilindros (60-

61 ). Estudios inmunohistoquímicos han demostrado proteína de Bence-Jones en el citoplasma de las células tubulares, conteniendo muy poca cantidad de la misma los cilindros (113, 114).

Se ha visto también que la proteína de Bence-Jones además de ser excretada por los riñones era catabolizada por los mismos. Con el fallo renal progresivo esta función catabólica también desciende (115-117).

Se han descrito defectos específicos en la reabsorción tubular renal, incluyendo el síndrome de Fanconi del adulto en asociación con la proteinuria de Bence-Jones, indicando que ciertas proteínas de Bence-Jones tienen capacidad para interferir los mecanismos de transporte tubular específico, quizás a causa de la interacción directa (proteína-proteína) con los constituyentes del citoplasma de las células tubulares.

Aún no se ha encontrado correlación entre el tipo antigénico de proteína de Bence-Jones y su potencial nefrotoxicidad. El hecho de que la nefrotoxicidad no es común a todas las proteínas de Bence-Jones se demuestra por el mantenimiento de una aparentemente normal función renal con importante proteinuria de Bence-Jones. Por lo que además de

la proteinuria de Bence-Jones contribuyen diversos factores al fallo renal en el mieloma, particularmente la hipercalemia, la hiperuricosuria y la deshidratación disminuida ultimamente debido a avances terapéuticos (82, 105, 117, 118).

#### AMILOIDOSIS.-

Se encuentra amiloidosis en el 10% de los casos de mieloma. Estas formas se aislan, pues el amiloide no tiene exactamente las características tintoriales de la amiloidosis sistémica reactiva, antiguamente denominada secundaria, a una supuración crónica: de ahí el nombre de paraamiloide.

Tampoco la repartición topográfica es análoga. Recuerda a la amiloidosis primitiva tipo Lubarsch. El hígado, bazo, riñon, están raramente afectados; el paraamiloide está sobre todo en el tubo digestivo, especialmente la lengua que aparece voluminosa, dolorosa y equimótica; el aparato circulatorio especialmente el corazón, condicionando una insuficiencia cardiaca irreductible; la piel en forma de infiltraciones a nivel de los párpados y dedos de la mano, que aparecen "apretados", de tinte lila, equimosis causada por infiltración de la pared de los capilares; finalmente, las articulaciones y las vainas tendinosas pueden producir a ni



vel de la muñeca un síndrome del tunel carpiano.

Los signos de amiloidosis predominan a menudo o preceden a los signos del mieloma. Pueden faltar totalmente los síntomas óseos, clínicos y radiológicos. Esto sucede especialmente en los mielomas con proteínas de Bence-Jones y mas raramente de tipo IgA. Sea cual sea, la presencia de proteína de Bence-Jones es constante.

También hay amiloidosis puramente anatómicas, cuya prueba es difícil hacer durante la vida del enfermo. No siempre es positiva la prueba de Paunz al rojo Congo. La biopsia rectal ofrece mayores posibilidades de positividad. Recientemente se hace uso de la biopsia medular y la coloración por la tioflavina T y el examen con luz de Wood, para el diagnóstico de la misma. (119).

#### MANIFESTACIONES NEUROLÓGICAS.-

Las manifestaciones neurológicas aparecen en un significativo porcentaje de casos de mieloma (61, 82). En estos pacientes gravemente enfermos, incluyendo los uremicos son frecuentes la confusión y el delirio.

La compresión directa de la médula espinal, de las

raíces, de los nervios craneales o de los nervios periféricos pueden deberse al mieloma per se o bien resultar de la fractura patológica de los cuerpos vertebrales u otro hueso.

La compresión de la médula espinal origina paraparesia y en ultimo extremo paraplejia, siendo esta una complicación que requiere temprana atención con laminectomía descompresiva seguida de irradiación local.

La infiltración de los nervios periféricos y de las raíces por amiloide puede causar neuropatías periféricas o síntomas radiculares, que generalmente son simétricos y van asociados a otros síntomas de amiloidosis tales como macroglosia, manifestaciones cardiacas y síndrome del tunel carpiano.

El mieloma raramente presenta polineuropatías sin un tumor demostrado o una infiltración amiloidótica. Si aparecen presentan los mismos rasgos que las polineuropatías de origen oscuro asociadas a enfermedades neoplásicas (61, 62, 82, 120, 121).

La leucoencefalopatía multifocal también se ha descrito asociada al mieloma (122).

Ocasionalmente se ha asociado al mieloma algunas miopatías con afectación principal de grupos musculares proximales, siendo su patogenia oscura.

#### ARTRITIS.-

Los signos y síntomas articulares varían desde ligeras artralgiás transitorias hasta artritis reumatoidea progresiva con las características deformidades articulares y nódulos reumatoideos todos ellos asociados con todas las discrasias de células plasmáticas incluyendo el mieloma clínicamente patente (123-126).

No se pueden distinguir si las manifestaciones articulares son secundarias a las anormalidades de las gammaglobulinas o si la discrasia de células plasmáticas se desarrolla como consecuencia de una artritis reumatoidea de larga evolución por estimulación retículo endotelial crónica.

En muchos casos aparecen síntomas atípicos articulares al mismo tiempo que otras manifestaciones de una discrasia de células plasmáticas (dolores óseos, proteinuria de Bence-Jones) . En estos casos es probable que las manifestaciones articulares sean secundarias a la discrasia de

células plasmáticas y muchas veces se deben al depósito de amiloide en los tejidos periarticulares (62, 123, 125 - 128).

#### LEUCEMIA DE CELULAS PLASMATICAS.-

Ocasionalmente se puede observar un cuadro clínico compatible con el mismo con hepatomegalia y esplenomegalia y recuento leucocitario superior a 15.000 elementos con más del 50% de células plasmáticas (61, 129, 130).

Los síntomas y signos en estos casos son análogos a otro tipo de leucemias, con pérdida de peso, anemia y manifestaciones hemorrágicas. Las células de la sangre periférica pueden ser plasmocitos típicos o formas atípicas e inmaduras.

La proteinuria de Bence-Jones y las anormalidades de las globulinas séricas ocurren con la misma frecuencia que en el mieloma. La mayoría de los casos siguen un curso clínico agudo o subagudo (130).

#### NEOPLASIAS ASOCIADAS.-

En distintos estudios se ha apreciado un aparente

aumento de la incidencia de neoplasias no reticulares en pacientes afectos de mieloma, particularmente carcinoma de intestino, mama y tracto biliar (59, 82, 84, 131, 132).

Los tipos de tumores primarios encontrados en pacientes con mieloma evidente son similares a los encontrados en pacientes con discrasia de células plasmáticas asintomática asociada con neoplasias no reticulares. La significación de esta asociación es desconocida.

## 2.- ANALISIS DE LOS METODOS DE LABORATORIO UTILIZADOS PARA EL DIAGNOSTICO DEL MIELOMA MULTIPLE.-

El analisis de las proteínas monoclonales en suero o orina, requieren un método de screening sensible y rápido para detectar la posibilidad de una proteína monoclonal y un ensayo específico para identificar si se trata de una clase de cadena pesada o de un tipo de cadena ligera; la electroforesis sobre membranas de acetato de celulosa es el mejor test utilizado. Después de esta técnica la inmunoelectroforesis con antisueros monoespecíficos debe ser empleada para confirmar la presencia de una proteína monoclonal y para distinguir la clase de inmunoglobulina y el tipo de cadena ligera presente.

La electroforesis de las proteínas del suero debe ser hecha en todos los casos en los cuales, el Mieloma Múltiple, la macroglobulinemia o la miloidosis sean sospechadas. Además, la electroforesis está indicada en cualquier paciente, con debilidad o fatiga inexplicada, anemia, elevación de la velocidad de sedimentación, dolor lumbar, osteoporosis, lesiones osteolíticas o fracturas, deficiencia de inmunoglobulinas, hipercalcemia, proteinuria de Bence-Jones, insuficiencia renal o infecciones recurrentes. La electroforesis de las proteínas del suero debe también ser realizada en paciente con neuropatía periférica, síndrome del túnel carpiano, insuficiencia cardíaca congestiva refractaria, síndrome nefrótico, hipotensión ortostática o síndrome de malabsorción intestinal, ya que una banda localizada un pico alto de base estrecha en la electroforesis puede fuertemente sugerir la existencia de amiloidosis primaria.

Una de las ventajas de la membrana de acetato de celulosa sobre el papel de filtro para la electroforesis, es la reducción en la absorción del suero sobre el medio de soporte. La absorción reducida hace posible usar una pequeña cantidad de suero ( 0,7 microlitros ) y también resulta en menor borramiento y en una separación más nítida de las distintas bandas proteicas. Sobre el acetato de la ce-

lulosa, la  $\alpha_1$ , globulina es muy bien separada de la albúmina, mientras que sobre el papel de filtro la  $\alpha_1$ , globulina es encontrada en el pico de la albúmina. Tal separación nítida, prueba una sensibilidad mayor para el acetato de celulosa, lo cual es una ventaja muy importante. Además en algunos tipos de Mieloma, macroglobulinemia y gammapatía monoclonal de significación desconocida está asociada con bandas discretas o picos que pueden ser muy pequeños, particularmente en la gammapatía monoclonal de significación desconocida, amiloidosis y enfermedad de cadena pesada, y que por tanto, no pueden ser detectado sobre el papel de filtro. Otra ventaja de la membrana de acetato de celulosa sobre el papel de filtro es que la separación de las proteínas, ocurre en menos de 15 minutos, en contraste con las 15 horas que se necesitan cuando se utiliza papel de filtro.

#### 2a.- ELECTROFORESIS DEL SUERO.-

La electroforesis sérica se debe realizar sobre membrana de acetato de celulosa. Las inmunoglobulinas pueden aparecer desde la región  $\alpha_2$ , hasta la región  $\gamma$ . El fibrinógeno aparece como una banda discreta entre el pico de la  $\beta$  y  $\gamma$ . Por ello, uno debe examinar la muestra para coágulo cuando una banda pequeña localizada, sea vista en el área  $\beta$ - $\gamma$ . Un coágulo puede sugerir que el plasma había coagulado después de que la electroforesis hubiese sido hecha. Si no se ve coágulo, si el fibrinógeno está pre-

sente. Si la banda desaparece, cuando la electroforesis es repetida, esto prueba la presencia de fibrinógeno. Las inmunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgD, e IgE), constituyen el componente  $\gamma$ , pero ellas también pueden ser encontradas en la región  $\alpha_2$  y la IgG se puede extender hasta la región  $\alpha_2$  globulina.

Un descenso en la albúmina y un aumento de las fracciones  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$  y ocasionalmente en la región  $\gamma$  globulina, son hallazgos no específicos, vistos en procesos inflamatorios (inflamación tisular y destrucción de tejidos), tal como infecciones y enfermedad metastásica. Los picos anchos de la gammaglobulina con bordes muy separados, son vistos en infecciones crónicas, enfermedades del tejido conectivo y enfermedades de hígado.

Raramente dos bandas de albúmina (bisalbuminemia) son encontradas; esta es una anormalidad familiar que no produce síntomas.

La hipogammaglobulinemia está caracterizada por un neto descenso en el componente gamma (inferior a 0,6 gr/dl) y el diagnóstico debe ser confirmado, cuantificando el nivel de inmunoglobulinas. La hipogammaglobulinemia puede ser congénita (tipo Bruton) o adquirida (idiopática



o relacionada con síndrome nefrótico Mieloma Múltiple, amiloidosis, L.L.C., linfoma o tratamiento con corticoesteroides).

Un aumento discreto de la banda  $\beta$  asociado con un descenso en la banda  $\delta$ , sugiere el diagnóstico de Mieloma Múltiple o Amiloidosis. En este caso, la proteinuria de Bence-Jones, está a menudo presente; la práctica de inmunoelectroforesis en suero y orina está indicada.

Un gran descenso en la fracción  $\alpha_1$  globulina es generalmente debido a una deficiencia congénita de  $\alpha_1$  antitripsina y puede estar asociada clínicamente con infecciones pulmonares recurrentes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, hepatitis crónica agresiva o Cirrosis hepática constituida.

Una proteína monoclonal, generalmente aparece en la electroforesis sérica, como un pico estrecho o como una banda densa y discreta en la región  $\gamma$ ,  $\beta$  o  $\alpha_2$  sobre la membrana de acetato de celulosa. Por el contrario, un exceso de inmunoglobulinas policlonales (teniendo uno o mas tipos de cadena pesada, con ambos tipos K y  $\lambda$  de cadenas ligeras) hacen un pico de base ancha o banda ancha que generalmente se encuentra limitado por la región  $\gamma$ .

Ocasionalmente, un suero contiene dos proteínas monoclonales de diferentes clases de inmunoglobulinas, y a esta situación se la denomina gammapatía biclonal. Un pico homogéneo es más sugestivo de gammapatía monoclonal de significación desconocida, Mieloma Múltiple o macroglobulinemia; pero picos monoclonales pueden también aparecer en la amiloidosis primaria y en el linfoma. Otras condiciones, pueden sugerir la existencia de una proteína monoclonal en el suero. Por ejemplo un pico ancho y grande en la región

$\alpha_2$ , globulina puede representar complejos libres de hemoglobina haptoglobina resultantes de hemólisis. El suero en estas condiciones toma una coloración rojiza y debe sugerir la posibilidad de hemólisis, en este caso, otras muestras de suero del paciente deben ser obtenidas. Grandes aumentos de transferrina en pacientes con anemia por deficiencia de hierro pueden presentarse como una banda localizada en la región  $\beta$ , esto, puede sugerir la existencia de una proteína monoclonal. En el síndrome nefrótico el aumento de  $\alpha_2$  o  $\beta_1$  globulinas (o ambas) puede simular una banda monoclonal de movilidad rápida, siendo confundido con una proteína monoclonal. Sin embargo, la asociación de un nivel bajo la albúmina e hipogammaglobulinemia debe orientarnos hacia el diagnóstico correcto, además, el patrón urinario está constituido fundamentalmente de albúmina.

Las infecciones crónicas, enfermedades del tejido conectivo y enfermedades crónicas del hígado, muestran a menudo un pico de gammaglobulina de base ancha (policlonal), particularmente en la hepatitis crónica activa, en la cual, el componente gamma puede ser de 4-5 gr/dl o más.

Esta gran banda de gammaglobulina puede ser confundida con la vista en el Mieloma Múltiple o en la macroglobulinemia. Ocasionalmente, procesos linfoproliferativos tienen un aumento policlonal de las inmunoglobulinas y por otra parte una proteína monoclonal, puede aparecer en la membrana de acetato de celulosa con base ancha induciéndonos a pensar erróneamente que se trataría de una gammapatía policlonal; cuando esto ocurre suele ser debido a agregados polímeros de la inmunoglobulina presente (generalmente IgA) debiendo realizarse entre todos estos casos inmunoelectroforesis.

Debemos señalar, que un enfermo puede tener una proteína monoclonal en el suero y la concentración total de las proteínas y el valor de la  $\beta$  y de la  $\gamma$  globulina en contraste dentro de los límites normales. Un pequeño pico monoclonal puede encontrarse oculto entre la región  $\beta$ - $\gamma$  y no visualizarse en el patrón electroforético. De hecho, el patrón electroforético en acetato de celulosa, puede ser

normal y existir una proteína monoclonal, por ejemplo, una cadena ligera monoclonal (proteinemia de Bence-Jones) es vista raramente mediante electroforesis sérica. En los casos de Mieloma IgD, la proteína monoclonal aparece como una pequeña banda muy poco evidente y a menudo en la enfermedad de cadena pesada no se evidencia la proteína monoclonal en la electroforesis sérica. De hecho, el patrón electroforético del suero es normal en la mitad de los casos de enfermedad de cadena pesada y  $\alpha$  una banda ancha pequeña en la región  $\alpha_2 - \beta$  es la única normalidad electroforética en los casos restantes de enfermedad de cadena pesada  $\alpha$ . La característica banda estrecha o pico estrecho en la electroforesis sugestivo de una proteína monoclonal, es raramente visto en la enfermedad de cadena pesada.

En la enfermedad de cadena pesada  $\mu$ , en el patrón electroforético es normal salvo que existe hipogammaglobulinemia y la aparición de una banda estrecha en estos casos es excepcional. En la enfermedad de cadena pesada  $\gamma$ , se ve generalmente una banda localizada en el área  $\beta - \gamma$ , pero a menudo es ancha, heterogenea y más sugestiva de una proteína policlonal, que monoclonal. Por ello, un valor normal para los componentes de patrón electroforético pueden aún contener una proteína monoclonal, de aquí, que en la inmunolectroforesis sea crucial para el diagnóstico.

## 2b.- INMUNOELECTROFORESIS DEL SUERO.-

La inmunolectroforesis es necesaria para la identificación de la proteína monoclonal y para la determinación de la clase de cada cadena pesada y del tipo de cadena ligera. Debe ser realizada cuando una banda estrecha o pico estrecho es encontrado en la electroforesis de acetato de celulosa o cuando el Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis o desorden relacionado es sospechado por el clínico. Es particularmente útil para determinar cuando un plasmocitoma solitario está localizado o no. Después de terapia con radiación tumoricida, una proteína monoclonal de un plasmocitoma solitario desaparece; su persistencia tras la terapeutica, dicha sugiere la existencia de Mieloma Múltiple difuso.

La inmunolectroforesis, es esencial para diferenciar un aumento policlonal de un aumento monoclonal. Anti-suero monoespecífico debe ser utilizado para determinar si el aumento de una clase de cadena pesada está asociado con un aumento de clase de cadenas ligeras K o  $\lambda$  si el exceso proteico es monoclonal; por el contrario si el exceso proteico es policlonal, existirá un aumento de ambos tipos de cadenas ligeras.

El aumento policlonal de las inmunoglobulina está generalmente asociado con un proceso inflamatorio, tal como infecciones crónicas, enfermedades de tejido conectivo o enfermedades crónicas del hígado. Por otra parte, una proteína monoclonal suele estar asociada con un proceso neoplásico o potencialmente maligno.

En el Mieloma Múltiple, un antisuero monoespecífico frente a cadenas pesadas  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  o  $\epsilon$  y frente a cadenas ligeras K o  $\lambda$ , producen un arco de precipitación frente a la cadena pesada que se trate y otro arco similar de la cadena ligera, K o  $\lambda$ . La mayoría de los arcos de precipitación se forman dentro de las primeras 24 horas.

En la macroglobulinemia, antisuero  $\mu$  y antisuero K o  $\lambda$  produce un arco de precipitación denso localizado. A veces, la proteína IgM monoclonal no muestra una anomalía acompañante de cadenas ligeras y ello sugiere una enfermedad de cadena pesada  $\mu$ . Sin embargo, la adición de un agente reductor tal como el ditiotreitol o el mercaptoetanol en el suero produce una preparación que puede generalmente ser identificada como proteína monoclonal IgM K o IgM  $\lambda$ , cuando la inmunolectroforesis es repetida. Para estas situaciones puede ser de utilidad la inmunofijación (133) (134).

En la inmunolectroforesis de una IgG monoclonal, la anormalidad en el arco de precipitación, puede ocurrir desde la región  $\gamma$  a la región  $\alpha_2$ . El aumento policlonal de una inmunoglobulina específica a menudo produce un arco de precipitación localizado de la cadena pesada pero no se vé arco de precipitación localizado correspondiente, a la cadena ligera única, debido a que ambas cadenas ligeras K y  $\lambda$  están aumentadas.

Se debe encontrar un aumento localizado solamente de un arco de cadena ligera, antes de aceptar la existencia de una proteína monoclonal.

El patrón electroforético de las proteínas del suero a pesar de que exista una proteína monoclonal, puede aparecer de base ancha; este hallazgo sugiere un aumento policlonal de las inmunoglobulinas, pero esto no es así a veces, dado que ocasionalmente proteínas monoclonales por ejemplo, la IgA, producen polímeros que ensanchan la base de inmunoglobulinas en la electroforesis del suero, simulando un aumento policlonal difuso de las inmunoglobulinas. En estos casos, la inmunolectroforesis del suero, demuestra la existencia de un arco de precipitación con antisue-ro monoespecífico, frente a la IgA y arco de precipitación frente a cadenas ligeras K, lo que demuestra la existencia

de una proteína monoclonal IgA K; lo mismo puede suceder con la IgM en la macroglobulinemia.

Valores cuantitativamente normales de inmunoglobulinas no excluyen una proteína monoclonal pequeña particularmente de la clase IgG, yá que una proteína monoclonal pequeña puede representar la mayor parte del nivel de IgG, la cual se puede encontrar dentro de los límites normales en su cuantificación.

La inmunolectroforesis es crucial para el diagnóstico de confirmación de una proteína monoclonal en el suero.

Todos los sueros deben ser investigados ante la posibilidad de la existencia de una proteína monoclonal IgD ó IgE.

Esta investigación es absolutamente esencial, cuando los arcos de precipitación de K o  $\lambda$  son vistos sin una anormalidad acompañante de los arcos de precipitación frente a IgG, IgA o IgM. En estos casos, se deben usar inmunodifusión, usando antisueros IgD e IgE, enfrentados al suero del paciente. Si el enfermo tiene un aumento en la concentración de IgD o IgE se formaran intensas bandas de pre-



precipitación. Todos los sueros que han formado una banda de precipitación son entonces estudiados por inmunoelectroforesis, con antisuero monoespecífico frente a IgD e IgE y frente a cadenas ligeras K y  $\lambda$ , yá que la mayoría de los sueros nó producen reacción con la inmunodifusión.

#### 2c.- INMUNODIFUSION RADIAL.-

La cuantificación de las inmunoglobulinas (135) es de gran ayuda en el diagnóstico de las gammopatías monoclonales. En este método, el antisuero frente a la inmunoglobulina específica ( IgG, IgA, IgM e IgD), es mezclado con agar y colocado sobre una placa. Concentraciones conocidas de una inmunoglobulina específica y el suero problema son colocados en los pozos. Yá que el tamaño de la zona de precipitación que se forma es proporcional a la cantidad de antígeno en el suero investigado, la zona de precipitación que se produce es medida y comparada con standard conocidos. Otras concentraciones de inmunoglobulinas pueden producir complejos solubles invisibles que conducen a la apariencia de que no existen inmunoglobulinas, teniendo que hacer una dilución previa del suero para hacer visible la zona de precipitación.

La IgM de bajo peso molecular (7S) produce un

valor elevado falso de IgM, debido a que su índice de difusión es mayor que el de la IgM (19S), el cual es usado como standard. Igualmente la IgA polimérica puede producir valores bajos, falsos ya que el standard consta de IgA ( 7S ).

Si el laboratorio realiza un gran número de test cuantitativos para la inmunoglobulina, un sistema autorizado de inmunoprecipilinas, es más práctico. En este sistema, el grado de turbidez producido por la interacción antígeno-anticuerpo es medido por NEFELOMETRIA en la región próxima a ultravioletas. Ya que la técnica NEFELOMETRICA al contrario que la inmunodifusión radial no es afectada por el tamaño molecular del antígeno, se pueden medir IgM 7S (136).

#### 2d.- INMUNOFIJACION.-

Es la realizada colocando el suero del paciente en un pozo con un 1% de agarosa. Se realiza previamente la electroforesis sérica y un trocito de papel de filtro impregnado con antisuero monoespecífico es colocado sobre la banda electroforética, a estudiar durante 15 minutos. La presencia de una proteína monoclonal se indica por una banda localizada estrecha cuando la agarosa es teñida con azul Coomasie. El proceso es repetido para cada cadena ligera o pesada estudiada, (133) (134).

## 2e.-CRIOGLOBULINAS.-

Cada muestra sérica debe ser investigada para crioglobulinas. El suero centrifugado y fresco guardado a 37° C, es colocado en un tubo hematocrito de Wintrobe e incubado a 0° C., en un baño frío, en una habitación fría durante 24 horas. Si un precipitado o gel es visto, el tubo es calentado a 37° C., durante 30 minutos. La disolución del precipitado indica la existencia de una crioglobulina. Posteriormente el tubo es colocado en un baño frío durante otras 24 horas, y después centrifugado a 1° C., y el criocrito es leído o interpretado. Sorprendentemente algunos pacientes con grandes cantidades de crioglobulinas, son asintomáticos mientras que otros con pequeñas cantidades de crioglobulinas monoclonales tienen dolor, púrpura Raynaud, cianosis o incluso ulceraciones, tras la exposición al frío. La temperatura a la cual las crioglobulinas precipitan es mucho más importante que el aumento de la proteína. Existen casos en los que la proteína produce serios problemas, precipitando a 26° C.

## 2f.- PIROGLOBULINAS.-

Las piroglobulinas son proteínas que precipitan irreversiblemente cuando se calientan a 56° C., y no se di-

suelven al enfriarse. Recuerdan a la proteína de Bence-Jones, ya que ambas precipitan cuando son calentadas a 60° C, pero pueden ser distinguidas fácilmente, por inmuno-electroforesis con antisuero específico. Las piroglobulinas son generalmente de la clase IgG, pero pueden ser IgM o IgA. La piroglobulinemia está asociada con el Mieloma Múltiple o la macroglobulinemia. No producen síntomas y no son más que una curiosidad de laboratorio.

#### 2g.- TEST DE SIA.-

El test de Sía para las euglobinas es realizado añadiendo un poco de suero al paciente en un tubo con agua destilada, el resultado positivo consiste en la formación de precipitado o floculación cuando el suero es diluido con el agua,. Este test ha sido recomendado para el diagnóstico de la macroglobulinemia, pero han sido vistos, falsos positivos y falsos negativos. Además, también presenta reacción positiva con el Mieloma IgG, Mieloma IgA, así como cuando existe aumento policlonal de las inmunoglobulinas. En la actualidad el test de Sía no es recomendado teniendo únicamente un interés histórico.

#### 2h.-ANALISIS DE PROTEINA M EN ORINA.-

Cuando los enfermos afectados de gammapatía monoclonal son estudiados, el análisis de la orina es esencial. El ácido sulfosalicílico o test de Exton, es el mejor método para la detección de la proteína. El albugix no detecta la proteína de Bence-Jones, por lo tanto no debe ser utilizado como test de rutina de proteinuria de Bence-Jones.

La mayoría, pero no todas las cadenas L. monoclonales, en la orina precipitan entre 40°-60° C., se disuelven a 100° C., y vuelven a precipitar enfriando la orina a 40-60° C., (27). Ocasionalmente el resultado del test del calor es positivo incluso cuando la orina del paciente no revela un tipo o banda localizada, en el patrón electroforético o cuando no hay evidencia de una cadena ligera monoclonal en la inmuno-electroforesis. Tales pacientes, generalmente tienen una banda gamma, de base ancha en la orina, y arcos de apariencia normal K y  $\lambda$  en la inmuno-electroforesis; presumiblemente el test positivo del calor en ellos es debido a un exceso de cadenas ligeras policlonales. Tal resultado falsamente positivo ocurre más a menudo en casos de insuficiencia renal, enfermedades de **tejido** conectivo o de enfermedades malignas (137). Inversamente, en algunos casos de Mieloma de la orina contiene grandes aumentos de cadenas ligeras monoclonales, los cuales tienen resultados

negativos para el test del calor. Por todo ello, el test del calor para las proteínas de Bence-Jones no siempre es patognomónico.

## 2i.- ELECTROFORESIS E INMUNOELECTROFORESIS DE ORINA.-

En todos los pacientes con proteínas monoclonales, la electroforesis y la inmunolectroforesis de orina deben ser realizadas.

Además, ambos test deben ser revisados en la orina en todos los casos de: Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis, gammapatia monoclonal de significación desconocida, enfermedad de cadena pesada y en todos los casos en los que se sospeche cualquiera de estas entidades.

En primer lugar, una muestra de orina de 24 horas debe recogerse para determinar la cantidad total de proteínas excretadas por día. Esto es muy importante cuando se sigue el curso de un enfermo, con una cadena ligera monoclonal en la orina, ya que la cantidad de proteína se correlaciona directamente con el tamaño y con el número de células tumorales.

Para la electroforesis de orina una muestra de

orina de 24 horas, debe ser primero concentrada. A continuación la inmunolectroforesis de la orina ya concentrada es realizada con antisuero monoespecífico K y  $\lambda$ .

Una proteína monoclonal urinaria aparece como una banda densa y localizada sobre la tira de acetato de celulosa o con un pico homogéneo y estrecho, sobre el trazado densitométrico. Generalmente una proteína monoclonal en la orina produce una base más ancha que la proteína monoclonal en el suero por lo que la inmunolectroforesis debe ser siempre realizada. Ocasionalmente, dos bandas discretas son vistas en el trazado de acetato de celulosa. Esto puede representar una cadena ligera monoclonal y una inmunoglobulina monoclonal del suero o bien las dos bandas pueden representar monómero y dímeros de una cadena ligera monoclonal. Un aumento policlonal de cadenas ligeras se ve como una banda muy ancha extendiéndose a través del área gamma. El trazado densitométrico es de base ancha y la inmunolectroforesis muestra arcos de precipitación K y  $\lambda$ . En el síndrome nefrótico se visualiza la gran banda de albúmina y pequeñas bandas  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , en el patrón electroforético.

La inmunolectroforesis de orina debe ser realizada sobre la orina concentrada en todos los pacientes, con una proteína monoclonal en el suero o con un pico estrecho

en el trazado de acetato de celulosa de la orina y en todos los casos de Mieloma Múltiple, macroglobulinemia, amiloidosis, o desórdenes relacionados. La inmuno-electroforesis es necesaria para establecer la presencia o ausencia de cadenas ligeras y para determinar si estas son monoclonales o policlonales. La muestra de orina concentrada es colocada en un pozo sobre un porta-microscopio cubierto con agar o agarosa, al 1%, sobre el que se ha realizado electroforesis para separar los distintos componentes. Posteriormente, la muestra del pozo es tratada con antisuero específico. Las proteínas de la muestra, que están dentro de la electroforesis (antígeno) y las del antisuero (anticuerpo), son dirigidas de forma difusa hacia uno u otro lado, formando líneas de precipitación o arcos a lo largo de la línea de contacto, entre el antígeno y el anticuerpo. Es esencial el uso de antisueros monoespecíficos, para determinar si las cadenas ligeras son K,  $\lambda$ , o ambas (policlonales). Teóricamente puede ser mejor usar antisuero que reconozca sólo la inmunoglobulina K o  $\lambda$  libre, mejor que antisuero de cadenas ligeras que reconozca cadenas ligeras que pueden estar o bien libres o dentro de inmunoglobulinas completas. Sin embargo, tales antisueros no son muy disponibles y la mayoría son no específicos o no potentes. Habitualmente, por lo tanto, se usan antisueros K y  $\lambda$ , que reconocen tanto a las cadenas ligeras libres como combinadas y son



monoespecíficos y potentes.

Una proteína monoclonal forma un arco de precipitación ( K o  $\lambda$  ), que está situado de forma estricta y localizada, mientras que un aumento policlonal de cadenas ligeras origina una elongación ancha de K y  $\lambda$  . En los pacientes con insuficiencia renal a menudo se vé un arco K y  $\lambda$  difuso, mientras que en la presencia de un Mieloma Múltiple o amiloidosis se vé un arco restringido que reacciona específicamente contra un antisuero K o  $\lambda$  . Dada la configuración de los arcos de precipitación existe muy poca dificultad para distinguir cadenas ligeras monoclonales de cadenas ligeras policlonales en la orina.

Ocasionalmente los casos más dudosos, seran necesario repetir la inmunolectroforesis con la orina más concentrada con lo cual no existiran dudas en los arcos de precipitación. Si la electroforesis de la orina revela un tipo de globulina, pero la inmunolectroforesis no muestra evidencia de una cadena ligera monoclonal, se debe sospechar la existencia de una enfermedad de cadena pesada gamma. En este caso, se debe de realizar inmunolectroforesis de orina concentrada con antisuero frente a IgG (cadenas pesadas gamma).

La inmunolectroforesis debe ser hecha en una muestra de orina concentrada, en todos los pacientes con sospecha de gammapatía monoclonal, incluso si el test del ácido sulfosalicílico es negativo para proteína, yá que existen casos en los que la osmolaridad de la orina era normal o elevada y la reacción para proteína negativa, en los cuales, la electroforesis de una muestra de orina concentrada 200 veces revela una banda de globulina pequeña y localizada y la inmunolectroforesis demuestra una cadena ligera monoclonal.

Este hallazgo puede ser el primer dato para el diagnóstico de una amiloidosis primaria. La inmunolectroforesis con antisuero monoespecífico debe ser realizada en la orina de todos los adultos con síndrome nefrótico, cuando la causa del mismo no sea evidente.

Existe un gran número de pacientes en los que la electroforesis de orina muestra un gran aumento de la albúmina y cantidades insignificantes de globulinas, pero los cuales tienen cadenas ligeras monoclonales en la orina. Estos pacientes, casi siempre presentan amiloidosis primaria aunque algunos también tienen Mieloma Múltiple, la muestra de orina de 24 horas es importante dado que la misma nos permite medir la cantidad de proteína monoclonal excretada

por la orina, la cual, es un índice excelente del progreso de la enfermedad o del efecto de la quimioterapia. De la misma manera la proteinuria de 24 horas es un excelente método para seguir el curso de un paciente con amiloidosis y síndrome nefrótico.

Todos los pacientes estudiados por inmunoelectroforesis también deben ser examinados por inmunodifusión. Por este método una banda densa de precipitaciones confirman la presencia de proteína y de qué clase de proteína se trata; cuando en la banda de precipitación existan dudas, se debe de realizar inmunoelectroforesis con orina más concentrada para determinar si la banda de inmunodifusión representa un aumento monoclonal de cadenas ligeras o por el contrario de cadenas policlonales. La inmunodifusión es más sensible que la inmunoelectroforesis y es un test de Screening útil, pero tienen el inconveniente de que reacciona tanto con cadenas ligeras monoclonales como policlonales, por ello la inmunoelectroforesis debe siempre hacerse para probar que la proteína detectada es monoclonal.

Aunque el test del calor para la proteína de Bence-Jones es útil como test clínico de Screening, uno debe de recordar sus limitaciones. Para demostrar una proteína monoclonal en la orina, la electroforesis y la inmunoelec-

troforesis de una muestra de orina concentrada son los métodos de elección.

Todos los enfermos en los que se descubre una proteína monoclonal, deben poseer una historia clínica completa, y un examen físico minucioso,. Si la proteína monoclonal es mayor de 2 gr/dl o una proteína monoclonal es encontrada en la orina, se debe realizar: aspirado de médula ósea o biópsia, investigación para enfermedad ósea metastásica (serie ósea radiológica que abarca radiografía de huesos largos, cráneo, pelvis, parrila costal y raquis. Rastreo óseo isótopico ), determinaciones de hemograma, calcio, creatinina sérica y aclaramiento de creatinina. En todos los casos la amiloidosis debe ser siempre considerada por lo que deberá de realizarse: biopsia de submucosa rectal y tinción del material de la médula ósea para sustancia amiloide.

Si no se encuentra enfermedad maligna, el enfermo debe ser vigilado con electroforesis periódicas de suero y de orina, cada 6-9 meses. La inmunolectroforesis no es necesaria repetirla, a menos que existan cambios en el patrón electroforético del suero o de la orina. Además la electroforesis periódica de sangre y de orina es lo más útil para seguir el curso clínico de pacientes con Mieloma

Múltiple, o macroglobulinemia que estén bajo tratamiento con quimioterapia. Ello es de valor para determinar la progresión o regresión de la enfermedad, ya que existe una correlación directa entre el tamaño de la proteína sérica monoclonal y el número de células malignas.

Por todo ello, la electroforesis del suero y de la orina es el método mas seguro y más económico para seguir el curso de los pacientes con mieloma múltiple.

#### 2j.- MEDULA OSEA.-

Para el diagnóstico de mieloma múltiple es fundamental el examen de la médula ósea, bien sea por aspiración o por biopsia. Practicamente en todos los casos se encuentra aumentado el número de células plasmáticas con formas anormales, aunque puede ser necesario más de una biopsia (57, 60, 61, 63, 82, 105, 138-141).

La médula típica contiene por lo menos de un 5 a un 10% de células plasmáticas, muchas de ellas grandes, inmaduras y multinucleadas. Cuando la proporción de células plasmáticas excede del 15 al 20% y sobre todo cuando se encuentran nidos o agrupaciones de células plasmáticas con gran proporción de formas inmaduras o anormales el diagnós-

tico de mieloma puede ser establecido. No obstante el cuadro medular se debe interpretar unido a los datos clínicos y de laboratorio.

Está probado que la morfología de las células plasmáticas normales cambian de modo significativo en el curso de la diferenciación y maduración celular y que la morfología de las células plasmáticas en el mieloma varia en cada caso e incluso en el mismo caso (57, 61, 140, 142 - 146). Gran parte de esta variabilidad se debe a cambios en los constituyentes nucleares y citoplasmáticos de estas células que ocurren en el proceso de síntesis y liberación de los productos proteícos específicos. Así a medida que la célula plasmática se diferencia y desarrolla su capacidad de sintetizar proteínas hay una progresiva acumulación de ácido ribonucleico en el citoplasma. Este RNA es el responsable de la característica basofilia y pironinofilia del citoplasma de la célula plasmática.

Estudios de células plasmáticas normales y neoplásicas llevadas a cabo con microscopio electrónico (129, 143, 147, 148) han revelado un denso retículo endoplásmico (148, 149) y estudios de estas células con anticuerpos marcados con ferritina han confirmado la presencia de gammaglobulina en las cisternas endoplásmicas.

Se han realizado diversos estudios para intentar correlacionar las características morfológicas de las células plasmáticas anormales en los casos de mieloma y el tipo de proteína sintetizado por cada tipo de célula (65, 140, 144, 146, 150).

Se han descrito diferencias entre las células productoras de las globulinas mielomatosas IgG e IgA (129, 144).

En estudios de médula ósea se han encontrado células tipo Undritz "en llama" y también tesaurocitos (células de depósito) con citoplasma muy distendido por acumulo de proteínas; se vieron que estos predominaban en el mieloma IgA (129, 143-145).

En el mieloma IgA en estudios con microscopía electrónica se observaron agregados citoplásmicos de sus proteínas específicas. La liberación de la proteína desde estas células flameadas y tesaurocitos pueden necesitar la disolución y desintegración del citoplasma, este proceso se denomina clasmatosis (142).

En un pequeño porcentaje en las células plasmáticas normales y neoplásicas se pueden encontrar cristales in-

tracitoplásmicos (142, 143).



U.- EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DEL MIELOMA MULTIPLE

EXPERIMENTACION ANIMAL EN EL ESTUDIO DEL MIELOMA MULTIPLE.-

Aunque los factores causales de las discrasias de células plasmáticas en el hombre todavía no se conocen, es posible que algunos conocimientos provengan de estudios de tumores experimentales de células plasmáticas en el ratón. Estos estudios, han demostrado la importancia de factores genéticos, con la demostración de la particular susceptibilidad de la cepa endogámica C<sub>3</sub>H del ratón y los híbridos F<sub>1</sub> de CBA x DBA/2 para desarrollar tumores espontáneos de células plasmáticas (151) (152). Intentando documentar los factores genéticos, se han llevado a cabo estudios cromosómicos en diversos tumores murinos, así como en mielomas humanos y en casos de macroglobulinemia, pero hasta ahora, no se han podido documentar anormalidades cariotípicas.

La interdependencia de los mecanismos genético y carcinógeno se manifiesta en el grupo interesante de tumores de células plasmáticas experimentales provocadas en la cepa de ratones BALB/c. Una variedad de neoplasias de células plasmáticas pueden provocarse en esta cepa por implantación intraperitoneal de plasticos, mezclas de aceite mineral y coadyuvantes y aceite mineral solo (153) (154). La importancia de los mecanismos genéticos es evidente por la particular susceptibilidad de la cepa BALB/c. para desa-

rollar tumores de células plasmáticas en respuesta a estas formas de irritación peritoneal crónica (reticuloendotelial). Dato importante, la cepa de ratones  $C_3H$  que no desarrolla espontáneamente tumores de células plasmáticas, no es sensible para provocar estos tumores por coadyuvantes intraperitoneales u otros. Con muchos otros tumores experimentales se han comprobado la interacción de factores genéticos, virus y carcinógenos químicos y físicos.

Aunque los factores genéticos parecen ser importantes en la patogenia de estos tumores, se ha sugerido un posible papel leucemógeno de los virus por haberse encontrado partículas víricas tipo C en los tumores murinos, mediante el microscopio electrónico (152) (155). Sin embargo, los intentos de transmisión de estos tumores, mediante filtrados libres de células han sido infructuosos y el significado de estas partículas víricas en los tumores de células plasmáticas murinas es todavía oscuro.

Hallazgos recientes (156) (157) han encontrado evidencia adicional que implica a las bacterias intestinales en la patogénia de los tumores de células plasmáticas en los ratones BALB/c. Este hallazgo, ha consistido en demostrar que algunas globulinas mielomatosas producidas por estos tumores tenían actividad anti-cuerpo frente

a los polisacáridos de ciertas bacterias, incluyendo organismos coliformes del ratón huésped. Todavía no está claro si estas reacciones son inespecíficas o presentan verdaderas actividades de anticuerpo. De todas formas, parece evidente que el desarrollo de tumores de células plasmáticas, en la cepa murina BALB/c ., y en otras, se relaciona con las células plasmáticas del intestino y secundariamente con las bacterias intestinales.

La relación de estos patrones de enfermedades en el animal con los mecanismos patogénicos responsables de las discrasias de células plasmáticas, en el hombre, es incierta, pero existen creciente evidencia de que si los mecanismos no son idénticos son por lo menos comparables. Esta evidencia, se basa en el hallazgo de la aparición de discrasia de células plasmáticas sintomática y asintomática de individuos con infecciones crónicas de larga evolución y con procesos inflamatorios crónicos (71) (158).

---

S E G U N D A   P A R T E

---

I.- HIPOTESIS DE TRABAJO

### I.- HIPOTESIS DE TRABAJO.-

De las anormalidades hidroelectrolíticas descritas en el mieloma múltiple es quizás la hiponatremia la más frecuentemente citada ( 1 ), siendo no obstante relativamente escasas las publicaciones que hacen mención de forma directa a este problema.

Por este motivo, sentimos la inquietud de estudiar y comprobar en nuestro medio las alteraciones hidroelectrolíticas inducidas en un grupo de enfermos adultos (20) afectados de mieloma múltiple tipo IgG e IgA.

Con el conocimiento bien probado de la existencia de hiponatremia en el mieloma múltiple ( 1 ) ( 7 ) nos propusimos en primer lugar, sentar la frecuencia de aparición de esta alteración hidroelectrolítica en nuestro grupo de enfermos e intentar correlacionar este descenso si así sucediese con los niveles séricos de la paraproteína que se trate en cada caso.

Con esta finalidad y movidos por esta inquietud iniciamos el estudio de las alteraciones hidroelectrolíticas en 20 enfermos afectados de mieloma múltiple.

## II.- MATERIAL



## MATERIAL

Hemos estudiado a 20 enfermos adultos, los cuales presentaban un mieloma múltiple detectado en todos ellos por estudio electroforético e inmuno-electroforético en sangre y orina. De la serie total de 20 enfermos estudiados 14 fueron varones (70%) y 6 fueron hembras (30%). La edad media para el grupo de varones se hallaba comprendida entre 53 y 80 años con una media de edad (65,57 años). La edad media para el grupo de hembras se hallaba comprendida entre 60 y 75 años con una media de edad (65,17 años). La media de edad global para el total de la serie estudiada fue de 65, 45 años (cuadro nº 6 y 7).

Del total de la serie de 20 enfermos en 15 se confirmó el diagnóstico de mieloma múltiple con paraproteína IgG, de los cuales 9 fueron varones (60%) y 6 fueron hembras (40%). La edad media del grupo de varones fue de 61,56 años. La edad media para grupo de hembras fue de 61,17 años. La edad media global para el grupo de 15 enfermos afectados de mieloma múltiple con paraproteína IgG fue de 63 años (cuadro nº 8).

Del total de la serie de 20 enfermos en 5 se confirmó el diagnóstico de mieloma múltiple con paraproteína

CUADRO N°6

CUADRO GENERAL ENFERMOS

C.N°	S	E	Diagnostico
1	V	53	MIELOMA IgG <sub>K</sub>
2	V	58	"
3	V	55	"
4	H	60	"
5	V	67	"
6	H	61	"
7	H	75	"
8	V	61	"
9	H	61	"
10	H	63	"
11	V	60	MIELOMA IgG <sub>λ</sub>
12	V	55	"
13	V	78	"
14	V	67	"
15	H	71	"
16	V	84	MIELOMA IgA <sub>K</sub>
17	V	66	"
18	V	57	"
19	V	77	MIELOMA IgA <sub>λ</sub>
20	V	80	"

# CUADRO N° 7

## MIELOMA MULTIPLE

Mieloma	Ig G	15	75 %
"	Ig A	5	25 %
N° TOTAL		20	100 %

## MIELOMA IgG

Ig G <sub>K</sub>	10	66,7 %
Ig G <sub>λ</sub>	5	33,4 %
N° TOTAL	15	100 %

## MIELOMA IgA

Ig A <sub>K</sub>	3	60 %
Ig A <sub>λ</sub>	2	40 %
N° TOTAL	5	100 %

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	14 (70%)	6 (30%)	20 (100 %)
Edad Media (años)	65,57a.	65,17a.	65,45 a.

# CUADRO N° 8

## DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO

### GRUPO MIELOMA Ig G

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	9 (60%)	6 (40%)	15 (100%)
Edad Media (años)	61,56a.	61,17a.	63 a.

### GRUPO MIELOMA Ig G<sub>K</sub>

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	5 (50%)	5 (50%)	10 (100%)
Edad Media (años)	58,80a.	64 a.	61,40a.

### GRUPO MIELOMA Ig G<sub>λ</sub>

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	4 (80%)	1 (20%)	5 (100%)
Edad Media (años)	65a.	71a.	66,20a.

IgA estos enfermos fueron varones y su edad media fue de 72,8 años (cuadro nº 9).

Del total de la serie de 15 enfermos con mieloma múltiple con paraproteína IgG en 10 se demostraron cadenas K (66,7%) y en 5 se demostraron cadenas  $\lambda$  (33,4%) (cuadro nº 7).

De los 10 enfermos con IgG con cadenas K, 5 fueron varones (50%) y 5 fueron hembras (50%). La edad media para el grupo de varones fue de 58,8 años. La edad media para el grupo de hembras fue de 64 años. La edad media global para el grupo de 10 enfermos afectados de mieloma múltiple con cadenas pesadas K fue de 61,4 años (cuadro nº 8).

De los 5 enfermos con IgG con cadenas  $\lambda$ , 4 fueron varones (80%) y 1 fue hembra (20%). La edad media para el grupo de varones fue de 65 años. La hembra tenía 71 años. La edad media global para el grupo de 5 enfermos afectados de mieloma múltiple con cadenas pesadas  $\lambda$  fue de 66,2 años (cuadro nº 8).

Del total de la serie de 5 enfermos con mieloma múltiple con paraproteína IgA en 3 se demostraron cadenas K (60%) y en 2 se demostraron cadenas  $\lambda$  (40%) (cuadro nº

# CUADRO N° 9

## DISTRIBUCION POR EDAD Y SEXO

### GRUPO MIELOMA Ig A

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	5 (100%)		5 (100%)
Edad Media (años)	72,80		72,80

### GRUPO MIELOMA Ig A<sub>K</sub>

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	3 (100%)		3 (100%)
Edad Media (años)	69		69

### GRUPO MIELOMA Ig A<sub>λ</sub>

	<u>V</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL</u>
N° Casos	2 (100%)		2 (100%)
Edad Media (años)	78,50		78,50

7).

De los 3 enfermos con IgA con cadenas K todos fue  
ron varones (100%) y su edad media fue de 69 años ( cuadro  
nº 9).

Los 2 enfermos con IgA con cadenas  $\lambda$  fueron va-  
rones (100%) y sus edades fueron 77 y 80 años respectivamente  
(cuadro nº 9).

### III.- METODOS



### 1.- ELECTROFORESIS DEL SUERO.-

Buffer de Barbital sódico 9 gr/l. pH 9,25.

Tiempo de electroforesis 15 minutos a 200 voltios.

Se realizó microelectroforesis sobre un soporte de acetato de celulosa.

Tinción: rojo de Ponceau al 0,2% en tricloroacético al 3%.

Lavado y transparentación: 14% acético y 86% metanol (repetir 3 veces).

Secado a temperatura ambiente.

Lectura: densitómetro supercellomatic de la casa ATOM.

### ELECTROFORESIS DE ORINA.-

Se realizó concentración de orina en AMICON (100-veces), y a continuación con la orina concentrada se realizó la misma técnica descrita para la electroforesis del suero.

### 2.- INMUNOELECTROFORESIS DEL SUERO.-

Medio de difusión: gel de agarosa (placas de inmunolectrofilms) suministradas por la casa Kallestad).

Buffer de Barbital 7,4 gr/l pH 7,6 0,1.

Amperaje: 25 mA cada placa de inmunolectrofilm (14 x 10,5 cm).

Las placas de inmunolectrofilm utilizadas contienen 7 pocitos cada una donde son colocados de forma alterna suero del paciente y suero control.

Cada placa de inmunolectrofilm contiene 6 canales donde son depositados los antisueros monoespecíficos.

La duración de la inmunolectroforesis fué de 45 minutos.

Los antisueros utilizados de rutina son de conejo anti IgG, IgA, IgM. Anti Kapa y anti Lambda.

### INMUNOELECTROFORESIS DE ORINA.-

Previo a la práctica de la inmunolectroforesis de orina se recogió en todos los pacientes orina de 12 horas y a continuación fué concentrada aproximadamente unas 100 veces en celdillas de AMICON. La muestra concentrada fué colocada a continuación en placas de inmunolectrofilm y a partir de este momento la técnica utilizada fué similar a la descrita para la inmunolectroforesis del suero.

### 3.- INMUNODIFUSION RADIAL. NEFELOMETRIA.-

Se utilizaron placas de inmunodifusión Tri-Partigen-IgA; Tri-Partigen-IgG, Tri-Partigen-IgM del Institut Behring.

Las placas de inmunodifusión Tri-Partigen, están cubiertas de una capa de gelosa conteniendo un suero anti IgA, anti IgG, anti IgM, específico de las cadenas alfa, gamma y MÚ respectivamente. El antisuero es obtenido por inmunización de conejo con las inmunoglobulinas humanas altamente purificadas.

Agentes de conservación utilizados:

- ácido de sodio ( 1 gr/l ).
- p-(ethyl-mercuri-mercapto-) benzosulfonate sodique. ( 0,1 gr/l ).

Suero Standard utilizado: suero Standard estabilizado (Bhringwerke).

Suero de control utilizado: suero de control Tri-Partigen.

Bajo control del Instituto Paul-Ehrlich, Bureau Federal des Sérums et Vaccins, Frankfurt/M., 'Allemagne.

#### 4.- DETERMINACION DE CALCIO SERICO.-

La determinación de calcio sérico fué realizada mediante autoanalizador de SMA 6/60 de Technicon. Este

equipo trabaja con la metódica de flujo continuo. Las muestras, colocadas en el "sampler", son aspiradas por medio de una bomba peristáltica durante 94 segundos y distribuidas a los 6 canales: al mismo tiempo se inyecta aire para que la muestra quede segmentada. En su flujo, las muestras son dializadas y posteriormente se les incorpora los reactivos desarrollantes de color. Finalmente este color es fotometrado y produce una señal eléctrica que es procesada electronicamente para transformarla en unidades de concentración. En consecuencia con las muestras le acompañan controles de valores conocidos de cada muestra de que se trata.

El procedimiento seguido para la determinación de calcio sérico en este equipo de SMA es el correspondiente a la cresolftalemia complezona (159), que incorpora la 8 hidroxiquinokina para eliminar la interferencia del magnesio. Este procedimiento no es más que una modificación del procedimiento original, (160).

El suero control de calibración utilizado fue: Technicon ( TQC ) Chemistry Calibrator 3.

##### 5.- DETERMINACION DE CREATININA SERICA.-

La determinación de creatinina sérica fué realizada de la misma manera que ocurrió con el calcio en el autoanalizador SMA 6/60 de Technicon. El procedimiento analítico para determinaciones de creatinina sérica está basado en este equipo SMA en la reacción de Jaffe, es decir, color desarrollado por el picrato alcalino. La metódica se debe a D.L. Stevens and L.T. Skeggs.

El suero control de calibración utilizado fué Technicon ( TQC ) Chemistry Calibrator 3.

#### 6.- DETERMINACION DE SODIO PLASMATICO.-

La determinación de sodio plasmático fué realizado por fotometría de llama.

El suero es aspirado por una bomba peristáltica y al mismo tiempo es extraído por la misma, la solución del standard interno de litio y de agua para llegar a una dilución de la muestra de 1/100. El líquido obtenido es aspirado por efecto venturi por medio de un compresor, pulverizándose. El aerosol formado está compuesto de gotas de tamaño grande y pequeño. Las primeras, caen por densidad y se eliminan mientras que las pequeñas son arrastradas por el aire al quemador. El combustible es propano.

Se forma una llama de tipo turbulento que por la presencia de litio toma un color rojocarmesí. En la llama el agua de las gotitas se evapora y por efectos de la temperatura el residuo se volatiliza produciendo la disociación de los elementos; sodio, potasio y litio, los cuales pasan al estado excitado y al volver al estado fundamental emiten radiaciones características.

Evidentemente a mayor número de átomos se producirá mayor intensidad de la radiación.

El espectrofotómetro posee 3 detectores, uno para el sodio, otro para el potasio y otro para el litio con sus filtros correspondientes. Estos detectores producen una señal que convenientemente procesada la transforman en una corriente eléctrica, que alimenta los voltímetros digitales registrados. El litio por encontrarse en cantidad constante durante todas las transformaciones sirve de standard interno para compensar las fluctuaciones de la llama, aspiración de muestras etc. El espectrofotómetro de la llama es calibrado con suero de referencia y controlado con suero de control que contiene una cantidad conocida de suero y potasio.

El equipo utilizado es el IL número 243 (Flame

Photometre).

El suero de referencia utilizado fue: Lab-Trol.

El suero de control utilizado fue: Phat-Trol.

#### 7.- DETERMINACION DEL CLORO PLASMATICO.-

La determinación de cloro plasmático fue realizada por el método "Columbimétrico".

La muestra problema es añadida a un medio ácido con sulfúrico y que contiene como coloide protector albúmina. Dicha muestra es sometida a una electrólisis en la que se producen iones Ag, procedentes de uno de los electrodos y que una vez producidos se unen a los iones Cl formando  $\text{AgCl}$  INSOLUBLE. Para mantener los iones Ag en suspensión se utiliza el coloide protector. La cantidad de energía eléctrica consumida en la electrólisis es registrada mediante un contador. Cuando se produce un exceso de Ag, o lo que es lo mismo, se ha consumido todo el Cl, este exceso de Ag produce en los restantes electrodos un potencial eléctrico que acciona un "release", y paraliza la electrólisis. Conocidas "las cuentas", que produce un suero con cloro conocido, se puede averiguar la cantidad de cloro en una muestra dada.

El equipo utilizado es el CMT 10 Chloride, Titrator ( Radiometer, Copenhage ).

El suero de referencia utilizado fué: Lab-Trol.

El suero utilizado fué: Phat-Trol.

#### 8.- METODICA ESTADISTICA.-

Los datos obtenidos fueron sometidos a un proceso estadístico con una calculadora programable CASIO PRO fx-1.

Fue calculado el valor de la t de Student de cada dato obtenido en cada grupo de enfermedad según el tipo de inmunoglobulina presente en el suero. Posteriormente tras consultar las tablas científicas Documenta Geigy (161) fue obtenido el valor de la P. Con este valor obtuvimos la significación estadística en algunos de los parámetros analizados. Con posterioridad se realizó el grado de correlación entre los distintos electrolitos estudiados y la paraproteína elevada en cada caso.



RANGO DE NORMALIDAD CON LOS METODOS UTILIZADOS

	<u>Media</u> <u>DS</u>	<u>Nº casos</u>
Calcio sérico (mgr/dl)	9,10 $\pm 0,70$	200
Creatinina sérica (mgr/dl)	0,90 $\pm 0,10$	200
IgG (mgr/dl)	1300 $\pm 500$	120
IgA (mgr/dl)	270 $\pm 180$	120
IgM (mgr/dl)	155 $\pm 95$	120
Sodio sérico (mEq/l)	140 $\pm 5$	200
Cloro sérico (mEq/l)	101,5 $\pm 3,5$	200

#### IV.- RESULTADOS

#### IV.- RESULTADOS.-

En la serie total de 20 enfermos afectados de mieloma múltiple (cuadros nº 10 a, b, c, d), se confirmó el diagnóstico a través de la siguiente sistemática de estudios: historia clínica, exploración clínica exhaustiva, estudio bioquímico general: hemograma, calcemia, creatinina, aclaramiento de creatinina, electroforésis de suero y orina, inmunoelectroforésis en suero y orina, electrolitos en suero (sodio, potasio y cloro), gasometría venosa y viscosimetría sérica (ocasional). En este grupo de enfermos fue realizada punción-biopsia de cresta iliaca, con estudio citológico del material obtenido de médula ósea. En todos los enfermos de este grupo, fue realizada serie ósea radiológica completa que comprendía: radiografía de huesos largos, radiografía P.A. y L. de craneo, radiografía de pelvis, radiografía de parrilla costal y radiografía de raquis.

Los criterios diagnósticos que se siguieron para este grupo de enfermos fueron los siguientes:

1) Un número aumentado de células plasmáticas anormales, atípicas o inmaduras en la médula ósea, o bien, la comprobación histológica de un plasmocitoma extramedular.

**Cuadro N° 10a**

Casos	N°	S	E	Ca	Cr	Acl:Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl	Diagnostico
1	V	53	9.5	1	98	1675	461	180	135	105	Mieloma IgG <sub>K</sub>	
2	V	58	8.9	12	90	4000	31	20	130	101	"	
3	V	55	9.1	1.1	92	1900	40	44	135	102	"	
4	H	60	9	14	70	4600	143	86	130	98	"	
5	V	67	10.4	2.3	30	1300	27	69	135	101	"	

Cuadro N° 10b

Caso N°	S	E	Ca	Cr	Acl.Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl	Diagnostico
6	H	61	9	0.9	84	2100	185	104	132	99	Mieloma IgGκ
7	H	75	9	1.2	78	7600	54	44	123	99	"
8	V	61	9.4	1.1	90	1500	126	39	135	103	"
9	H	61	10.2	0.9	88	7800	25	26	128	100	"
10	H	63	10.5	1.1	88	9000	20	34	129	99	"

Cuadro N° 10 c

Caso	N°	S	E	Ca	Cr	AcI	Cr	Ig G	Ig A	Ig M	Na	Ca	Diagnostico
11	V	60	10.2	1.3	75	4300	12	34	129	105	Mieloma IgG $\lambda$		
12	V	55	9.3	1	100	2530	35	20	130	103	"		
13	V	78	9.4	1.2	65	1500	48	44	132	100	"		
14	V	67	10	1.4	68	2450	320	110	130	105	"		
15	H	71	10	1.2	85	5000	50	140	127	104	"		

Cuadro N° 10d

Caso	N°	S	E	Ca	Cr	AcI:Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl	Diagnostico
16	V	84	9.1	1.9	38	400	3100	20	128	99	Mieloma IgA $\kappa$	
17	V	66	8.9	1.5	64	470	930	20	135	106	"	
18	V	57	9.4	1.2	85	230	3560	28	129	103	"	
19	V	77	9.4	1.3	74	780	560	44	138	107	Mieloma IgA $\lambda$	
20	V	80	8.8	2.1	40	320	761	34	134	106	"	

2) Presencia de una proteína monoclonal en el suero y/o orina.

3) Lesiones óseas compatibles con las vistas en el mieloma múltiple.

Todos los pacientes que no reunían estos criterios diagnósticos fueron excluidos de nuestra serie.

De la serie total de 20 enfermos de mieloma múltiple en 15 se detectó en suero una paraproteína IgG (75%), y en 5 se detectó en suero una paraproteína IgA (25%).

De los 15 enfermos con paraproteína IgG 9 fueron varones (60%) y 6 fueron hembras (40%). La edad media para el grupo de varones fue de 61,56 años. La edad media para el grupo de hembras fue de 61,17 años. La edad media para el grupo total fue de 63 años (cuadro nº 8).

De los 15 enfermos con mieloma IgG en 10 se demostraron cadenas K (66,7%) y en 5 cadenas  $\lambda$  (33,4%).

De los 5 enfermos con paraproteína IgA todos fueron varones (100%) la edad media de estos fue de 72,8 años.



De los 5 enfermos con mieloma IgA en 3 se demostraron cadenas K (60%) y en 2 cadenas  $\lambda$  (40%).

En la serie total de 20 enfermos estudiados, el calcio sérico se halló ( $> 9,80$  mgr/dl) en 6 enfermos (30%) de los cuales 3 fueron varones (21,43%) y 3 fueron hembras (50%).

La creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 14 enfermos (70%) de los cuales 9 fueron varones (64,29%) y 5 fueron hembras (35,71%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fueron hallados en 6 enfermos (30%) de los cuales 5 fueron varones (83,33%) y 1 fue hembra (16,67%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 14 enfermos (70%) de los cuales 8 fueron varones (57,14%) y 6 fueron hembras (100%). Valores de aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m fueron hallados en 3 enfermos (15%), los cuales fueron varones (21,43%). Valores de aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m fueron hallados en 3 enfermos (15%), los cuales fueron varones (21,43%).

El sodio sérico se halló  $\geq 135$  mEq/l en 6 enfermos (30%), los cuales fueron varones (42,86%) el sodio sé-

rico se halló  $< 135$  mEq/l en 14 enfermos (70%), los cuales 8 fueron varones (57,14%) y 6 fueron hembras (100%).

El cloro sérico se halló entre 98-105 mEq/l en 17 enfermos (85%) de los cuales 11 fueron varones (78,57%) y 6 fueron hembras (100%). El cloro sérico se halló  $> 105$  mEq/l en 3 enfermos (15%), los cuales fueron varones (21,43%) (cuadro nº 11).

En la serie total de 15 enfermos estudiados con mieloma IgG, el calcio sérico se halló ( $> 9,80$  mgr/dl) en 6 enfermos (40%) de los cuales 3 fueron varones (33,33%) y 3 fueron hembras (50%).

La creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 12 enfermos (80%), de los cuales 7 fueron varones (77,78%) y 5 fueron hembras (83,33%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fueron hallados en 3 enfermos (20%) los cuales 2 fueron varones (22,22%) y 1 fue hembra (16,67%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 12 enfermos (80%), de los cuales 6 fueron varones (66,67%) y 6 fueron hembras (100%). Valores de aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m fueron hallados en 2 enfermos (13,33%), los cuales fueron varones (22,22%). Valores de

CUADRO N° 11

<u>MIELOMA MULTIPLE</u>		<u>V(14 )</u>	<u>H( 6 )</u>	<u>N° TOTAL(20)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl	3(21,43%)	3(50%)	6(30%)
CREATININA SERICA	0,8 -1,5mgr/dl	9(64,29%)	5(83,33%)	14(70%)
	> 1,3mgr/dl	5(35,71%)	1 (16,67%)	6 (30%)
ACI. CREA-TININA	≥ 70cc/m	8(57,14%)	6 (100%)	14(70%)
	50-70cc/m	3(21,43 %)		3(15%)
	< 50cc/m	3(21,43 %)		3(15%)
Na SERICO	≥ 135mEq/l	6 42,86		6(30%)
	< 135mEq/l	8(57,14 %)	6 (100%)	14(70%)
CI SERICO	98 -105mEq/l	11( 78,57%)	6 100	17(85%)
	> 105mEq/l	3 (21,43%)		3(15%)

aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m fue hallado en 1 enfermo (6,67%), el cual fue varón (11,11%).

El sodio sérico se halló  $\geq$  135 mEq/l en 4 enfermos (26,67%), los cuales fueron varones (44,44%). El sodio sérico se halló  $<$  135 mEq/l en 11 enfermos (73,33%), los cuales 5 fueron varones (55,56%) y 6 fueron hembras (100%).

El cloro sérico se halló entre 95-105 mEq/l en estos 15 enfermos (100%), los cuales 9 fueron varones (100%) y 6 fueron hembras (100%) (cuadro nº 12).

En la serie total de 5 enfermos estudiados con mieloma IgA todos fueron varones, la creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 2 enfermos (40%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fueron hallados en 3 enfermos (60%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq$  70 cc/m en 2 enfermos (40%). Valores de aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m fue hallado en 1 enfermo (20%). Valores de aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m fueron hallados en 2 enfermos (40%).

El sodio sérico se halló  $\geq$  135 mEq/l en 2 enfer-

CUADRO N° 12

<u>MIELOMA MULTIPLE IgG</u>		<u>V(9)</u>	<u>H(6)</u>	<u>N°TOTAL(15)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl	3(33,33%)	3(50%)	6(40%)
CREATININA SERICA	0,8 -1,5mgr/dl	7(77,78%)	5(83,33%)	12(80%)
	> 1,3mgr/dl	2(22,22%)	1(16,67%)	3(20%)
ACI. CREA-TININA	≥ 70cc/m	6(66,67%)	6(100%)	12(80%)
	50-70cc/m	2(22,22%)		2(13,33%)
	< 50cc/m	1(11,11%)		1(6,67%)
Na SERICO	≥ 135mEq/l	4(44,44%)		4(26,67%)
	< 135mEq/l	5(55,56%)	6(100%)	11(73,33%)
Cl SERICO	98-105mEq/l	9(100%)	6(100%)	15(100%)
	> 105mEq/l			

mos (40%). El sodio sérico se halló  $< 135$  mEq/l en 3 enfermos (60%).

El cloro sérico se halló entre 98-105 mEq/l en 2 enfermos (40%). El cloro sérico se halló  $> 105$  mEq/l en 3 enfermos (60%), (cuadro nº 15).

En la serie total de 10 enfermos estudiados con mieloma IgG con cadenas K, el calcio sérico se halló  $> 9,80$  mgr/dl en 3 enfermos (30%), de los cuales 1 fue varón (20%) y 2 fueron hembras (40%).

La creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 8 enfermos (80%), de los cuales 4 fueron varones (80%) y 4 fueron hembras (80%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl se halló en 2 enfermos (20%), de los cuales 1 fue varón (20%) y otra fue hembra (20%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 9 enfermos (90%), de los cuales 4 fueron varones (80%) y 5 fueron hembras (100%). Valores de aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m se halló en 1 enfermo (10%), el cual fue varón (20%).

El sodio sérico se halló  $> 135$  mEq/l en 4 enfermos

CUADRO N° 15

<u>MIELOMA MULTIPLE Ig A</u>		<u>V( 5)</u>	<u>H</u>	<u>N° TOTAL( 5)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl			
CREATININA SERICA	0,8 - 1,5mgr/dl	2 ( 40%)		2 ( 40%)
	> 1,3mgr/dl	3 ( 60%)		3 ( 60%)
ACI. CREA- TININA	≥ 70cc/m	2 ( 40%)		2 ( 40%)
	50 - 70cc/m	1 ( 20%)		1 ( 20%)
	< 50cc/ m	2 ( 40%)		2 ( 40%)
Na SERICO	≥ 135mEq/l	2 ( 40%)		2 ( 40%)
	< 135mEq/l	3 ( 60%)		3 ( 60%)
Cl SERICO	98 - 105mEq/l	2 ( 40%)		2 ( 40%)
	> 105mEq/l	3 ( 60%)		3 ( 60%)

(40%), los cuales fueron varones (80%). El sodio sérico se halló  $< 135$  mEq/l en 6 enfermos (60%) los cuales 1 fue varón (20%) y 5 fueron hembras (100%).

El cloro sérico se halló entre 98-105 mEq/l en 10 enfermos (100%) los cuales 5 fueron varones (100%) y 5 fueron hembras (100%) (cuadro nº 13).

En la serie total de 5 enfermos estudiados con mieloma IgG con cadenas  $\lambda$ , el calcio sérico se halló  $> 9,80$  mgr/dl en 3 enfermos (60%), los cuales 2 fueron varones (50%) y 1 fue hembra (100%).

La creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 4 enfermos (80%), los cuales 3 fueron varones (35%) y una fue hembra (100%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fue hallado en 1 enfermo (20%), el cual fue varón (25%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 3 enfermos (60%), los cuales 2 fueron varones (50%) y 1 fue hembra (100%). Valores de aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m fueron hallados en 2 enfermos (40%), ambos fueron varones (50%).



CUADRO N° 13

		<u>MIELOMA MULTIPLE Ig G<sub>K</sub></u>		
		<u>V(5)</u>	<u>H(5)</u>	<u>N°TOTAL(10)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl	1(20%)	2(40%)	3(30%)
CREATININA SERICA	0,8 -1,5mgr/dl	4(80%)	4(80%)	8(80%)
	> 1,3mgr/dl	1(20%)	1(20%)	2(20%)
ACI. CREA-TININA	≥ 70cc/m	4(80%)	5(100%)	9(90%)
	50 - 70cc/m			
	< 50cc/m	1(20%)		1(10%)
Na SERICO	≥ 135mEq/l	4(80%)		4(40%)
	< 135mEq/l	1(20%)	5(100%)	6(60%)
Cl SERICO	98 - 105mEq/l	5(100%)	5(100%)	10(100%)
	> 105mEq/l			

El sodio sérico se halló  $> 135$  mEq/l en 5 enfermos (100%), los cuales 4 fueron varones (100%) y 1 fue hembra (100%).

El cloro sérico se halló entre 98-105 mEq/l en 5 enfermos (100%), los cuales 4 fueron varones (100%) y 1 fue hembra (100%) (cuadro nº 14).

En la serie total de 3 enfermos estudiados con mieloma IgA con cadenas K todos fueron varones, la creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 1 enfermo (33,33%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fueron hallados en 2 enfermos (66,67%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 1 enfermo (33,33%). Valores de aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m fue hallado en 1 enfermo (33,33%). Valores de aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m fue hallado en 1 enfermo (33,33%).

El sodio sérico se halló  $\geq 135$  mEq/l en 1 enfermo (33,33%). El sodio sérico se halló  $< 135$  mEq/l en 2 enfermos (66,67%).

El cloro sérico se halló entre 98-105 mEq/l en

CUADRO N° 14

<u>MIELOMA MULTIPLE</u>		<u>Ig G<sub>λ</sub></u>		
		<u>V (4)</u>	<u>H (1)</u>	<u>N° TOTAL (5)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl	2 (50%)	1 (100%)	3 (60%)
CREATININA SERICA	0,8 - 1,5mgr/dl	3 (75 %)	1 (100%)	4 (80%)
	> 1,3mgr/dl	1 (25%)		1 (20%)
ACI. CREA- TININA	≥ 70cc/m	2 (50 %)	1 (100%)	3 (60%)
	50 - 70cc/m	2 (50%)		2 (40%)
	< 50cc/m			
Na SERICO	≥ 135mEq/l			
	< 135mEq/l	4 (100%)	1 (100%)	5 (100%)
CI SERICO	98 - 105mEq/l	4 (100%)	1 (100%)	5 (100%)
	> 105mEq/l			

2 enfermos (66,67%). El cloro sérico se halló 105 mEq/l en 1 enfermo (33,33%) (cuadro nº 16).

En la serie total de 2 enfermos estudiados con mieloma IgA con cadenas  $\lambda$ , ambos fueron varones, la creatinina sérica se halló entre 0,8-1,3 mgr/dl en 1 enfermo (50%). Valores de creatinina sérica superiores a 1,3 mgr/dl fue hallado en 1 enfermo (50%).

El aclaramiento de creatinina se halló  $\geq 70$  cc/m en 1 enfermo (50%). Valores de aclaramiento de creatinina inferiores a 50 cc/m se halló en 1 enfermo (50%).

El sodio sérico se halló  $\geq 135$  mEq/l en 1 enfermo (50%). El sodio sérico se halló  $< 135$  mEq/l en 1 enfermo (50%).

El cloro sérico se halló  $> 105$  mEq/l en ambos enfermos (100%) (cuadro nº 17).

CUADRO N° 16

<u>MIELOMA MULTIPLE Ig A<sub>K</sub></u>		<u>V(3)</u>	<u>H</u>	<u>N°TOTAL(3)</u>
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl			
CREATININA SERICA	0,8 -15mgr/dl	1 (33,33%)		1 (33,33%)
	> 1,3mgr/dl	2 (66,67%)		2 (66,67%)
ACI. CREA-TININA	≥ 70cc/m	1 (33,33%)		1 (33,33%)
	50 - 70cc/m	1 (33,33%)		1 (33,33%)
	< 50cc/m	1 (33,33%)		1 (33,33%)
Na SERICO	≥135mEq/l	1 (33,33%)		1 (33,33%)
	< 135mEq/l	2 (66,67%)		2 (66,67%)
Cl SERICO	98 -105mEq/l	2 (66,67%)		2 (66,67%)
	>105 mEq/l	1 (33,33%)		1 (33,33%)

CUADRO N° 17

	<u>MIELOMA</u>	<u>MULTIPLE</u>	<u>Ig A<sub>λ</sub></u>		<u>N°TOTAL (2)</u>
			<u>V (2)</u>	<u>H</u>	
CALCIO SERICO	> 9,8mgr/dl				
CREATININA SERICA	0,8 - 1,5mgr/dl	1 (50%)			1 (50%)
	>1,3mgr/dl	1 (50%)			1 (50%)
ACI. CREA- TININA	≥70cc/m	1 (50%)			1 (50%)
	50 - 70cc/m				
	<50cc / m	1 (50%)			1 (50%)
Na SERICO	≥135mEq/l	1 (50%)			1 (50%)
	<135mEq/l	1 (50%)			1 (50%)
Cl SERICO	98 - 105mEq/l				
	>105mEq/l	2 (100%)			2 (100%)

DATOS ESTADISTICOS

## 1.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	7,10	0,11	2,65
g.l.	213	213	213
P <	0,001	0,95	0,01

## 2.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	3,19	1,71	0,06
g.l.	203	203	203
P <	0,005	0,20	0,95

3.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>K</sub> Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	5,48	0,72	1,77
g.l.	208	208	208
P <	0,001	0,50	0,10

4.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>λ</sub> Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	4,64	1,21	2,16
g.l.	203	203	203
P <	0,001	0,30	0,05

5.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA<sub>K</sub> Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	3,22	0,58	0,07
g.l.	201	201	201
P <	0,005	0,60	0,95

6.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA<sub>λ</sub> Y SUJETOS NORMALES.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	1,13	2,02	0
g.l.	200	200	200
P <	0,30	0,05	-



7.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG Y PACIENTES  
CON MIELOMA IgA.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	1,21	2,02	1,83
g.l.	18	18	18
P <	0,30	0,10	0,10

8.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG Y PACIENTES  
CON MIELOMA IgA<sub>K</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	0	0,70	1,40
g.l.	16	16	16
P <	-	0,50	0,20

9.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG Y PACIENTES  
CON MIELOMA IgA<sub>λ</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	2,18	2,85	1,21
g.l.	15	15	15
P <	0,05	0,02	0,30

10.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA Y PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>K</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	0,77	2,71	1,34
g.l.	13	13	13
P <	0,50	0,02	0,30

11.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA Y PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>λ</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	1,75	0,52	3,37
g.l.	8	8	8
P <	0,20	0,70	0,01

12.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>K</sub> Y PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>λ</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	0,89	2,48	0,95
g.l.	13	13	13
P <	0,40	0,05	0,40

13.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>K</sub> Y PACIENTES CON MIELOMA IgA<sub>K</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	0,22	1,35	1,02
g.l.	11	11	11
P <	0,90	0,30	0,40

14.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>K</sub> Y PACIENTES CON MIELOMA IgA<sub>λ</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	1,70	3,84	0,89
g.l.	10	10	10
P <	0,20	0,005	0,40

15.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG<sub>λ</sub> Y PACIENTES CON MIELOMA IgA<sub>K</sub>.

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	0,66	0,45	2,80
g.l.	6	6	6
P <	0,60	0,70	0,05

16.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgG $\lambda$  Y PACIENTES CON MIELOMA IgA $\lambda$ .

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	4,49	2,22	2,33
g.l.	5	5	5
P <	0,01	0,10	0,10

17.- COMPARACION ENTRE PACIENTES CON MIELOMA IgA $\kappa$  Y PACIENTES CON MIELOMA IgA $\lambda$ .

	<u>Na sérico</u>	<u>Cl sérico</u>	<u>Ca sérico</u>
t	2,10	1,78	0,13
g.l.	3	3	3
P <	0,20	0,20	0,95

GRADO DE CORRELACION1.- GRUPO MIELOMA IgG.-

IgG . . . .Na sérico	-0,78
IgG . . . .Cl sérico	-0,41
IgG . . . .Ca sérico	0,29

2.- GRUPO MIELOMA IgA.-

IgA . . . .Na sérico	-0,94
IgA . . . .Cl sérico	-0,84
IgA . . . .Ca sérico	0,41

3.- GRUPO MIELOMA IgG<sub>k</sub>.-

IgG <sub>k</sub> . . . .Na sérico	-0,86
IgG <sub>k</sub> . . . .Cl sérico	-0,60
IgG <sub>k</sub> . . . .Ca sérico	0,31

4.- GRUPO MIELOMA IgG<sub>λ</sub>.-

IgG . . . .Na sérico	-0,95
IgG . . . .Cl sérico	0,64
IgG . . . .Ca sérico	0,71

5.- GRUPO MIELOMA IgA<sub>K</sub>.-

IgA <sub>K</sub> . . . .Na sérico	-0,96
IgA <sub>K</sub> . . . .Cl sérico	-0,72
IgA <sub>K</sub> . . . .Ca sérico	0,89

6.- GRUPO MIELOMA IgA<sub>λ</sub>.-

IgA . . . .Na sérico	-1,00
IgA . . . .Cl sérico	-1,00
IgA . . . .Ca sérico	-1,00

ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgG

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
1	9,5	1,0	1675	464	180	135	105
2	8,9	1,2	4000	31	20	130	101
3	9,1	1,1	1900	40	44	135	102
4	9,0	1,4	4600	143	86	130	98
5	10,4	2,3	1300	27	69	135	101
6	9,0	0,9	2100	185	104	132	99
7	9,0	1,2	7600	54	44	123	99
8	9,4	1,1	1500	126	39	135	103
9	10,2	0,9	7800	25	26	128	100
10	10,5	1,1	9000	20	34	129	99
11	10,2	1,3	4300	12	34	129	105
12	9,3	1,0	2530	35	20	130	103
13	9,4	1,2	1500	48	44	132	100
14	10,0	1,4	2450	320	110	130	105
15	10,0	1,2	5000	50	140	127	104
n	15	15	15	15	15	15	15
$\bar{x}$	9,59	1,22	3817	105,3	66,27	130,7	101,6
DS	0,55	0,32	2464,8	125,2	46,4	3,3	2,4

ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgG<sub>K</sub>

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
1	9,5	1,0	1675	464	180	135	105
2	8,9	1,2	4000	31	20	130	101
3	9,1	1,1	1900	40	44	135	102
4	9,0	1,4	4600	143	86	130	98
5	10,4	2,3	1300	27	69	135	101
6	9,0	0,9	2100	185	104	132	99
7	9,0	1,2	7600	54	44	123	99
8	9,4	1,1	1500	126	39	135	103
9	10,2	0,9	7800	25	26	128	100
10	10,5	1,1	9000	20	34	129	99
n	10	10	10	10	10	10	10
$\bar{x}$	9,5	1,22	4147,5	111,5	64,6	131,2	100,7
DS	0,6	0,39	2819,7	129,9	46,1	3,8	2,1



ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgG $\lambda$

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
11	10,2	1,3	4300	12	34	129	105
12	9,3	1,0	2530	35	20	130	103
13	9,4	1,2	1500	48	44	132	100
14	10,0	1,4	2450	320	110	130	105
15	10,0	1,2	5000	50	140	127	104
n	5	5	5	5	5	5	5
$\bar{x}$	9,78	1,22	3156	93	69,6	129,6	103,4
DS	0,36	0,13	1291,6	114,3	46,8	1,6	1,9

ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgA

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
16	9,1	1,9	400	3100	20	128	99
17	8,9	1,5	470	930	20	135	106
18	9,4	1,2	230	3560	28	129	103
19	9,4	1,3	780	560	44	138	107
20	8,8	2,1	320	761	34	134	106
n	5	5	5	5	5	5	5
$\bar{x}$	9,12	1,6	440	1782,2	29,2	132,8	104,2
DS	0,25	0,35	187,9	1277,5	9,1	3,8	2,9

ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgA<sub>K</sub>

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
16	9,1	1,9	400	3100	20	128	.99
17	8,9	1,5	470	930	20	135	106
18	9,4	1,2	230	3560	28	129	103
n	3	3	3	3	3	3	3
$\bar{x}$	9,13	1,53	366,7	2530	22,7	130,7	102,7
DS	0,21	0,29	100,8	1146,9	3,8	3,1	2,9

ESTADISTICA DE ENFERMOS CON MIELOMA MULTIPLE IgA<sub>λ</sub>

Nº	Ca	Cr	IgG	IgA	IgM	Na	Cl
19	9,4	1,3	780	560	44	138	107
20	8,8	2,1	320	761	34	134	106
n	2	2	2	2	2	2	2
$\bar{x}$	9,1	1,7	550	660,5	39	136	106,5
DS	0,3	0,4	230	100,5	5	2	0,5

V.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS

## V.- ANALISIS DE LOS RESULTADOS.-

De la serie total de 20 enfermos estudiados por nosotros 14 fueron varones (70%) y 6 fueron hembras (30%). Datos similares a otras grandes series de enfermos publicadas en la literatura (162) (163). De estos 20 enfermos todos ellos (100%) tenían una edad superior a los 40 años, dato que también es concordante con series amplias de enfermos publicadas (162) (163).

### 1.- EN EL MIELOMA IgG.-

Del grupo total de enfermos con mieloma múltiple estudiados por nosotros (20 enfermos), en 15 se demostró una paraproteína IgG (75%), de estos 10 enfermos tenían una paraproteína IgG tipo K (66,7%) y 5 enfermos tenían una paraproteína tipo  $\lambda$  (33,4%).

Esta distribución es asimismo similar a la referida en la literatura (162). En este grupo de enfermos afectados de mieloma múltiple IgG el calcio sérico se encontró elevado en 6 enfermos (40%). La calcemia en las distintas series publicadas en el grupo de mielomas se encontró elevada entre el 20-39% (164) (165). El aumento del calcio en el mieloma múltiple, suele estar en relación con el grado

de afectación ósea demostrable en la radiología; asimismo parece existir una correlación directa entre el nivel del calcio del suero y la cuantificación de la paraproteína. Otros factores, tales como la deshidratación, insuficiencia renal, etc., pueden contribuir a la elevación sérica del calcio. No se ha demostrado en los pacientes con mieloma múltiple la elaboración de sustancias potencialmente hipercalcemiantes tales como polipéptidos PTH like, prostaglandinas, etc., aunque trabajos recientes parecen demostrar (166) la producción por parte de la célula mielomatosa de un factor activador de los osteoclastos (FAO), que puede contribuir directamente en la hipercalcemia de los pacientes con mieloma. En la serie estudiada por nosotros, los niveles más elevados de calcio sérico se correlacionaron con la tasa de paraproteína sérica, lo cual está de acuerdo con lo publicado recientemente en la literatura (165) (167) (casos nº 5, 9, 10, 11, 14, 15).

En el grupo de enfermos afectados de mieloma múltiple IgG se objetivó un aclaramiento de creatinina inicial inferior a 50 cc/m en 1 enfermo (6,67%), y un aclaramiento de creatinina entre 50-70 cc/m en 2 enfermos (13,33%). En 12 enfermos (80%) se objetivó un aclaramiento de creatinina normal. Los factores que parecen condicionar la insuficiencia renal en el mieloma múltiple, son numerosos incluyendo como más

importantes , la hipercalcemia, deplección hidrosalina, riñón genuino del mieloma producido por la interacción y precipitación intratubular de la proteína mielomatosa con las células epiteliales del tubulo renal (113). Otros factores implicados en la génesis de la nefropatía mielomatosa son la hiperuricemia, la realización de urografía intravenosa inicial, (168) (169), la hipotensión, la infiltración amiloide del parenquima renal con producción de un síndrome nefrótico, la pielonefritis aguda y crónica y por último la infiltración plasmocitaria del parenquima renal.

De los 15 enfermos afectos de mieloma múltiple IgG en 11 (73,33%) objetivamos un descenso del sodio sérico. Este hallazgo está reseñado en la literatura como el transtorno electrolítico más frecuente de los pacientes con mieloma múltiple ( 5 ). El mecanismo de la hiponatremia parece ser debido al desplazamiento del sodio conteniendo agua por la paraproteína y como consecuencia de ello cada litro de suero contiene más soluto (proteína), y por lo tanto menos cantidad de sodio por cada litro de suero. De esto se deduce que debe existir una correlación entre la cuantificación de la inmunoglobulina y el descenso del sodio sérico. En nuestra serie de enfermos afectos de mieloma múltiple IgG las hiponatremias mas severas se correlacionaron con los niveles más elevados de paraproteína en el suero (casos nº 2,4,7,9,

10,11,15) el valor medio hallado para el sodio en el mieloma múltiple IgG fue de  $130,67 \pm 3,32$  (t 7,10) y ( $P < 0,001$ ). El grado de correlación estadística hallado entre los niveles de IgG y el sodio plasmático fue de  $- 0,78$ . De lo expuesto podemos deducir que en el grupo de pacientes estudiados por nosotros afectados de mieloma múltiple IgG se halló un descenso del sodio estadísticamente significativo, demostrándose a su vez la existencia de una correlación entre los niveles de IgG y los niveles de sodio plasmático.

En el grupo de enfermos afectados de mieloma múltiple IgG estudiados por nosotros, el cloro sérico se halló normal en todos los casos (100%). El valor medio hallado para el cloro en este grupo de enfermos fue de  $101,6 \pm 2,36$  (t 0,11) y ( $P < 0,95$ ).

## 2.- EN EL MIELOMA IgA.-

Del total de enfermos con mieloma múltiple (20) en 5 (25%) se demostró un mieloma tipo IgA, de estos 5 enfermos 3 tenían una IgA tipo K (60%) y 2 tenían una IgA tipo  $\lambda$  (40%). Esta distribución es similar a la que se refiere en la literatura (162) (163). Estos 5 enfermos (100%) afectados de mieloma múltiple tipo IgA no presentaban elevación del calcio sérico.

En 2 enfermos de este grupo (40%) existía una insuficiencia renal con un aclaramiento de creatinina inferior a 50 cc/m (casos nº 16, 20). Las consideraciones hechas anteriormente para el mieloma IgG son aplicables a este grupo.

De los 5 enfermos con mieloma IgA en 3 enfermos (60%) objetivamos descenso del sodio sérico. El mecanismo del descenso está referido en el grupo de mieloma IgG. En este grupo el descenso del sodio sérico se correlacionó directamente con los niveles plasmáticos de IgA (grado de correlación  $-0,94$ ). El valor medio hallado para el sodio en el mieloma IgA fue de  $132,8 \pm 3,76$  ( $t$  3,19 y  $P < 0,005$ ). De lo expuesto podemos deducir que en el grupo de pacientes con mieloma IgA se encontró un descenso del sodio sérico estadísticamente significativo ( $P < 0,005$ ), demostrándose a su vez la existencia de una correlación directa entre los niveles de IgA y los niveles de sodio plasmático ( $-0,94$ ).

El cloro sérico en el grupo de enfermos de mieloma múltiple IgA estudiados por nosotros, se halló elevado en 3 enfermos, con un valor medio de  $104,2 \pm 2,93$  ( $t$  1,71 y  $P < 0,20$ ).



VI.- CONCLUSIONES

1) EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG E IgA SE OBJETIVO UN DESCENSO DEL SODIO SERICO ESTADISTICAMENTE SIGNIFICATIVO.

2) EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG E IgA NO SE OBJETIVARON OTRAS ALTERACIONES HIDROELECTROLITICAS DISTINTAS AL DESCENSO DE SODIO SERICO.

3) EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgG EL DESCENSO DEL SODIO SERICO SE CORRELACIONO DIRECTAMENTE CON LOS NIVELES DE LA PARA PROTEINA IgG

4) EN EL GRUPO DE ENFERMOS AFECTOS DE MIELOMA MULTIPLE IgA EL DESCENSO DEL SODIO SERICO SE CORRELACIONO DIRECTAMENTE CON LOS NIVELES DE LA PARA PROTEINA IgA.

VII.- BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- MURRAY, T., LONG, W. and NARINS, R.G.: Multiple myeloma and the anion Gap. N.Eng.J.Med. 292: 574, 1975.
- 2.- GAMBLE, J.L. Chemical anatomy, physiology and pathology of extracellular fluid: A Lecture Syllabus 6th. Ed. Harvard University Press, Cambridge, Mass., p. 131, 1960.
- 3.- VADER, H.L. and VINK, C.L.J.: The influence of viscosity on dilution methods: Its problems on the determination of serum sodium. Clin.Chin.Acta 65: 379, 1975.
- 4.- BLOTH, B., CHRISTENSSON, T. and MELLSTEDT, H.: Extreme hyponatremia in patients with myelomatosis. An effect of cationic para proteins. Acta Med.Scand. 203: 273-275, 1978.
- 5.- FRICK, P.G., SCHMID, J.R., KISTLER, H.J. and HITZIG, W. H.: Hyponatremia associated with hyperproteinemia in multiple myeloma. Helv.Med.Acta 4: 317-329, 1966.

- 6.- TARAIL, R., BUCHWALD, K.W., HOLLAND, J.F. and SELAWRY, O.S.: Misleading reductions of serum sodium and chloride associated with hyperproteinemia in patients with multiple myeloma. Proc.Soc.Exp.Biol. Med. 110: 145-148, 1962.
- 7.- OVERLACK, A., NIEDERLE, N., KLAUTKE, G., STUMPE, K.O. und KRUCK, F.: Vorgetäuschte Hyponatriämie bei malignen Paraproteinämien. Klin.Wochenschr. 58: 875-880, 1980.
- 8.- PITTS, R.F.: Physiology of the kidney and the body fluids. 2nd. edition. Year Book Medical Publishers, Chicago, 1968.
- 9.- ALBRINK, M.J., HALD, P.M., MAN, E.B. and PETERS, J.P.: The displacement of serum water by the lipids of hyperlipemic serum. A new method for the rapid determination of serum water. Clin.Invest. 34: 1483, 1955.
- 10.- DUNNE, M.J., SHENKIN, A. and IMIRIE, C.W.: Misleading hyponatraemia in acute pancreatitis with hyperlipaemia. Lancet 1: 211, 1979.



- 11.- WAUGH, W.H.: Utility of expressing serum sodium per unit of water in assessing hyponatremia. *Metabolism* 18: 706, 1969.
- 12.- PORTER, R.R.: Structural studies of immunoglobulins. *Science* 180: 713, 1973.
- 13.- NATVIG, J.B. and KUNKEL, H.G.: Immunoglobulins: Classes, subclasses, genetic against variant and idiotypes. *Adv.Immunol.* 16: 1, 1973.
- 14.- SHAPIRO, S.S.: Characterization of factor VIII antibodies. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 240: 350-360, 1975.
- 15.- MACINTYRE, W.: Case of mollities and fragilitas ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. *Med.Chir.Sec.* 33: 221-232, 1850.
- 16.- BENICE-JONES, H.: Papers on chemical pathology: prefaced by the Gulstonion lectures, read of the Royal College of Physicians 1846. *Lancet* 2: 88-92, 1847.
- 17.- EDELMAN, G.M. and GALLY, J.A.: The nature of Bence-Jones proteins: Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal

globulins. J.Exp.Med. 116: 207-227, 1962.

- 18.- BAYNE-JONES, S. and WILSON, D.W.: Immunological reactions of Bence-Jones proteins. II. Differences between Bence-Jones proteins from various sources. Bull. John Hopkins Hosp. 33: 119-125, 1922.
- 19.- KORNGOLD, L. and LIPARI, R.: Multiple myeloma proteins III. The antigenic relationship of Bence-Jones proteins to normal gamma-globulins and multiple myeloma serum proteins. Cancer 9: 262-272, 1956.
- 20.- LIEN, F.S., DEUTSCH, H.F. and TISCHENDORF, F.W.: Human -chain sequence variations and serologic associations. Immunochemistry 14: 429-433, 1977.
- 21.- SOLOMON, A. and McLANGHLIN C.L.: Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins. I. Formation and characterization of amino-terminal (variant) and carboxyl-terminal (constant) halves. J.Biol. Chem. 244: 3393-3404, 1969.
- 22.- FETT, J.W. and DEUTSCH, H.F.: Primary structure of the dog -chain. Biochemistry 13: 4102-4114, 1974.
- 23.- SOLOMON, A.: Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins. N.Engl.J.Med. 294: 17-23, 1976.

- 24.- WANG, A.C., FUDENBERG, H.H., WELLS, J.V. and ROELCKE, D.: A new subgroup of the kappa chain variable region associated with anti-Pr cold agglutinins (letter to the editor). *Nature (new Biol.)* 243: 126-128, 1973.
- 25.- SOLOMON, A.: Bence-Jones proteins and light chains of immunoglobulins XIV. Conformation dependency and molecular localization of kappa (K) and lambda ( ) antigenic determinants. *Scand.J.Immunol.* 5: 685-695, 1976.
- 26.- EULITZ, M.: A new subgroup of human L-chains of the -type: primary structure of Bence-Jones protein Del. *Eur.J.Biochem.* 50: 49-69, 1974.
- 27.- PUTNAM, F.W., EASLEY, C.W., LYNN, E.T., RITCHIE, A.E. and PHELPS, R.A.: The heat precipitation of Bence-Jones proteins I. Optium conditions. *Arch.Biochem. Biophys.* 83: 115-130, 1959.
- 28.- WV, T.T., and KABAT, E.A.: An analysis of the sequences of the variable regions of Bence-Jones and myeloma light chains and their implications for antibody complementarity. *J.Exp.Med.* 132: 211-250, 1970.

- 29.- CAPRA, J.D. and KEHOL, S.M.: Hypervariable regions, idiotype, and the antibody-combining site. *Adv. Immunology* 20: 1-40, 1975.
- 30.- STEINBERG, A.G.: Globulin polymorphisms in man. *Annu. Rev. Genet.* 3: 25-52, 1969.
- 31.- TOMASI, T.B. Jr.: Human immunoglobulin A. *N.Engl.J.Med.* 279: 1327-1330, 1968.
- 32.- DE COTEAU, W.E.: The role of secretory IgA in defense of the distal lung. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 221: 214-219, 1974.
- 33.- KOSHLAND, M.E.: Structure and function of the J. chain. *Adv.Immunol.* 20: 41-69, 1975.
- 34.- METZGER, H.: Structure and function of M macroglobulins. *Adv.Immunol.* 12: 57-116, 1970.
- 35.- PUTNAM, F.W., FLORENT, G., PAUL, C., SHINODA, T. and SHIMIZU, A.: Complete amino acid sequence of the mu heavy chain of a human IgM immunoglobulin. *Science* 182: 287-291, 1973.
- 36.- BUSH, S.T., SWEDLUND, H.A. and GLEICH, G.J.: Low molecular weight IgM in human sera. *J.Lab.Clin.Med.* 73: 194-201, 1969.

- 37.- ROWE, D.S. and FAHEY, J.L.: A new class of human immunoglobulins. I.A., unique proteins. J.Exp.Med. 121: 171-184, 1965.
- 38.- DUNNETTE, S.L., GLEICH, G.J., MILLER, R.D. and KYLE, R.A.: Measurement of IgD by a double antibody radioimmunoassay: Demonstration of an apparent trimodal distribution of IgD levels in normal human sera. J.Immunol. 119: 1727-1731, 1977.
- 39.- VON BOXEL, J.A., PAUL, W.E., TERRY, W.D. and GREEN, J.: IgD bearing human lymphocytes. J.Immunol 109: 648-651, 1972.
- 40.- SPIEGELBERG, H.L.: The structure and biology of human IgD. Immunol.Rev. 37: 3-24, 1977.
- 41.- ISHIZAKA, K., ISHIZAKA, T. and HORNBROOK, M.M.: Physicochemical properties of reaginic antibody. V. Correlation of reaginic activity with E-globulin antibody. J.Immunol. 97: 840-853, 1966.
- 42.- LIO, A., WALDMANN, T.A. and STROBER, W.: Metabolic study of human IgE: evidence for an extravascular catabolic pathway. J.Immunol. 120: 1696-1701, 1978.

- 43.- YUNGINER, J.W. and GLEICH, G.J.: The impact of the discovery of IgE: on the practice of Allergy. *Pediatr.Clin.North Am.* 22: 3-15, 1975.
- 44.- FAHEY, J.L., BUELL, D.N. and SOX, H.C.: Proliferation and differentiation of lymphoid cells: Studies with human cell lines and immunoglobulin synthesis. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 190: 221, 1971.
- 45.- BUXBOUM, J.N.: The biosynthesis, assembly and secretion of immunoglobulins. *Semin.Hematol.* 10: 33, 1973.
- 46.- SALMON, S.E.: Immunoglobulin synthesis and tumor kinetics of multiple myeloma. *Semin. Hematol.* 10: 135, 1973.
- 47.- BAUMAL, R. et al.: The regulation of immunoglobulin synthesis and assembly. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 190: 235, 1971.
- 48.- VITTETA, E.S. and UHR, J.W.: Cell surface immunoglobulin. 9. New method for the study of synthesis, intracellular transport, and exteriorization in murine splenocytes. *J.Exp.Med.* 139: 1599, 1974.

- 49.- MORRISON, S.L. et al.: The identifications of mouse myeloma cells which have undergone mutations in immunoglobulin production. P. 233. In: Cellular selection and regulation in the immune response. EDELMAN, G.M. (editor). Raven Press, 1974.
- 50.- ANDERSEN, S.B.: Metabolism of human gamma globulin. Blackwell, 1964.
- 51.- WALDMANN, T.A., and STROBER, W.: Metabolism of immunoglobulins. Prog.Allergy 13: 1, 1969.
- 52.- WELLS, J.V. and FUNDERBERG, H.H.: Metabolism of radioiodinated IgG in patients with abnormal serum IgG levels. 1. Hypergammaglobulinemia. 2. Hypogammaglobulinemia. Clin.Exp.Immunol. 9: 761-775, 1971.
- 53.- MACMAHON, B. and CLARK, D.W.: The incidence of multiple myeloma. J.Chronic.Dis. 4: 508, 1956.
- 54.- MARTIN, N.H.: The incidence of myelomatosis. Lancet 1: 237, 1961.
- 55.- LINGEMAN, C.H.: Plasma cell neoplasms of man and animals. Hematopoietic neoplasms. Nat.Cancer Inst. Monogr. 32: 303, 1968.

- 56.- KYLE, R.A., NOBREGA, F.T. and KURLAND, L.T.: Myeloma in Olmsted County, Minnesota, 1945-1964. Blood 33: 739, 1969.
- 57.- WALDENSTROM, J.: Diagnosis and Treatment of Multiple Myeloma. Grune & Stratton, New York, 1970.
- 58.- OSSERMAN, E.F., FARHANGI, M., HSU, C., ISOBE, T., OHTA, H., PENNY, R., PICK, A. and TAKATSUKI, K.: No publicado.
- 59.- TAKATSUKI, K.: Plasma cell myeloma and related diseases in Japan: clinical and immunochemical studies on M-components. Acta Haemat.Jap. 31: 636, 1968.
- 60.- ADAMS, W.S., ALLING, E.L. and LAWRENCE, J.S.: Multiple myeloma: its clinical and laboratory diagnosis with emphasis on electrophoretic abnormalities. Amer.J.Med. 6: 141, 1949.
- 61.- SNAPPER, I., TURNER, L.B. and MOSCOVITZ, H.L.: Multiple Myeloma. Grune & Stratton, New York, 1953.
- 62.- ENGLE, R.L., Jr., and WALLIS, L.A.: Immunoglobulinopathies. Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1969.



- 63.- DRIVSHOLM, A.: Myelomatosis. Acta Med.Scand. 176: 509, 1964.
- 64.- RICHMOND, H.G., OHNUKI, Y., AWA, A. and POMERAT, C.M.: Multiple myeloma - an in vitro study. Brit.J.Cancer 15: 692, 1961.
- 65.- CASTOLDI, G.L., RICCI, N., PUNTURIERI, E. and BOSI, L.: Chromosomal imbalance in plasmacytoma. Lancet 1: 828, 1963.
- 66.- BOTTURA, C.: Chromosomal abnormalities in multiple myeloma. Acta Haemat. 30: 274, 1963.
- 67.- CAGGIONE, V., CUTTNER, J. and SOLOMON, A.: Myeloma proteins, Bence-Jones proteins and normal immunoglobulins in multiple myeloma. Blood 30: 265, 1967.
- 68.- DAS, K.C. and ARKAT, B.K.: Chromosomal abnormalities in multiple myeloma. Blood 30: 738, 1967.
- 69.- HOUSTON, E.W., RITZMANN, S.E. and LEVIN, W.C.: Chromosomal aberrations common to three types of monoclonal gammopathies. Blood 29: 214, 1967.

- 70.- TASSONI, E.M., DURANT, J.R., BECKER, S. and KOWITZ, B.: Cytogenetic studies in multiple myeloma: a study of fourteen cases. *Cancer Res.* 27: 806, 1967.
- 71.- OSSERMAN, E.F. and TAKATSUKI, K.: Considerations regarding the pathogenesis of the plasmacytic dyscrasias. *Scand.J.Haemat. (Suppl.)* 4: 28, 1964.
- 72.- ZAWADZKI, Z. and EDWARDS, G.A.: Dysimmunoglobulinemia in the absence of clinical features of multiple myeloma and macroglobulinemia. *Amer.J.Med.* 42: 67, 1967.
- 73.- WALDENSTROM, J.: Die Frühdiagnose der Myelomatose. *Acta Chir.Scand.* 87: 365, 1942.
- 74.- WALDENSTROM, J.: Incipient myelomatosis or "essential" hyperglobulinemia with fibrinogenopenia: a new syndrome? *Acta Med.Scand.* 117: 216, 1944.
- 75.- WALLERSTEIN, R.S.: Multiple myeloma without demonstrable bone lesions. *Amer.J.Med.* 10: 325, 1951.
- 76.- NORGAARD, O.: Recherches sur l'évolution préclinique du myélome multiple. *Acta Med.Scand.* 176: 137, 1964.

- 77.- KYLE, R.A. and BAYRD, E.D.: Benign monoclonal gammopathy: a potentially malignant condition? Amer. J. Med. 40: 426, 1965.
- 78.- HALLEN, J.: Discrete gamma globulin (M-) components in serum. Clinical study of 150 subjects without myelomatosis. Acta Med. Scand. Suppl. 462, 1966.
- 79.- BARTELS, E.D., BRUN, G.C., GAMMELTOFT, A. and GJORUP, P.A.: Acute anuria following intravenous pyelography in patients with myelomatosis. Acta Med. Scand. 150: 297, 1954.
- 80.- MYHRE, J.R., BRADWALL, E.K. and KNUTSEN, S.B.: Acute renal failure following intravenous pyelography in cases of myelomatosis. Acta Med. Scand. 156: 263, 1956.
- 81.- PERILLIE, P.E. and CONN, H.O.: Acute renal failure after intravenous pyelography in plasma cell myeloma. JAMA 167: 2186, 1958.
- 82.- OSSERMAN, E.F.: Plasma-cell myeloma. II. Clinical aspects. New Engl. J. Med. 261: 952, 1959.

- 83.- LEUCOTIA, T.: Multiple myeloma and intravenous pyelography. Amer.J.Roentgen. 85: 189, 1961.
- 84.- WALDENSTROM, J.: Studies on conditions associated with disturbed gamma globulin formation (gammopathies). Harvey Lect. 56: 211, 1961.
- 85.- OSSERMAN, E.F.: Natural history of multiple myeloma before radiological evidence of disease: memorial fund lecture. Radiology 71: 157, 1958.
- 86.- BOUSSER, J.: Les myélomes. Formes cliniques et anatomocliniques. Diagnostic. Rev.Prat. 18: 1677, 1968.
- 87.- BOUSSER, J.: Les myélomes. Evolution, pronostic et traitement. Rev.Prat. 18: 1687, 1968.
- 88.- SNAPPERT, A. and KAHN, I.: Multiple myeloma. Semin. Hemat. 1: 87, 1964.
- 89.- KRAININ, P., D'ANGIO, C.J. and SMELIN, A.: Multiple myeloma with new bone formation. Arch. Intern. Med. 84: 976, 1949.

- 90.- ODELBURG-JOHNSON, O.: Osteosclerotic changes in myelomatosis. Acta Radiol. 52: 139, 1959.
- 91.- AGUAYO, A., THOMPSON, W.D. and HUMPHREY, J.G.: Multiple myeloma with polyneuropathy and osteosclerotic lesions. J.Neurol.Neurosurg.Psychiat. 27: 562, 1964.
- 92.- FAIRLEY, G.H., JACKSON, D.C. and MACDONALD, P.: Osteosclerosis in myelomatosis. Brit.J.Radiol. 37: 852, 1964.
- 93.- WIEDERMANN, B., KRČ, C., SOYKA, O. and VYKDAL, H.: Plasmazytome mit generalisierter Osteosklerose. Folia Haemat. 86: 47, 1966.
- 94.- LARSON, D.L. and TOMLINSON, L.J.: Quantitative antibody studies in man. II. Relation of serum proteins to antibody production. J.Lab.Clin.Med. 39: 129, 1952.
- 95.- MARKS, J.: Antibody formation in myelomatosis. J.Clin.Path. 6: 62, 1953.

- 96.- ZINNEMAN, H.H. and HALL, W.H.: Recurrent pneumonia in multiple myeloma and some observations on immunologic response. Ann. Intern. Med. 41: 1152, 1954.
- 97.- LAWSON, H.A., STUART, C.A., PAULL, A.M., PHILLIPS, A.M. and PHILLIPS, R.W.: Observations on antibody content of blood in patients with multiple myeloma. N.Engl.J.Med. 252: 13, 1955.
- 98.- FAHEY, J.L., SCOGGINS, R., UTZ, J.P. and SZWED, C.F.: Infection, antibody response and gamma globulin components in multiple myeloma and macroglobulinemia. Amer.J.Med. 35: 698, 1963.
- 99.- CONE, L. and UHR, J.: Immunological deficiency disorders associated with chronic lymphocytic leukemia and multiple myeloma. J.Clin.Invest. 43: 2241, 1964.
- 100.- SALMON, S.E., SAMAL, B.A., HAYES, D.M., HOSELEY, H., MILLER, S.P. and SCHILLING, A.: Role of gamma globulin for immunoprophylaxis in multiple myeloma. N.Engl.J.Med. 277: 1336, 1967.
- 101.- LIPPINCOTT, S.W., KORMAN, S., FORG, C., STICKLEY, E., WOLINS, W. and HUGHES, W.L.: Turnover of labeled normal gamma globulin in multiple myeloma. J.Clin. Invest. 39: 565, 1960.

- 102.- SOLOMON, A., WALDMANN, T.A. and FAHEY, J.L.: Metabolism of 6.6S gamma-globulin in normal subjects and in patients with macroglobulinemia and multiple myeloma. J.Lab.Clin.Med. 62: 1, 1963.
- 103.- MILLER, G.: Patterns of immunological deficiency in lymphomas and leukemias. Ann.Intern.Med. 57: 5, 1962.
- 104.- Séance spéciale de la Société française d'Hémostase. Nouv.Rev.franç.Hémat., 6: 679, 1966.
- 105.- MANDEMA, E.: Over het Multipel Myeloom, het Solitaire Plasmocytoom en de Macroglobulinaemie. Dijkstra's Drukkarij N.V., Groningen, Netherlands, 1956.
- 106.- LERNER, A.B. and WATSON, C.J.: Studies of cryoglobulins. I. Unusual purpura associated with presence of high concentration of cryoglobulin (cold precipitable serum globulin). Amer.J.Med.Sci. 214: 410, 1947.
- 107.- WATSON, C.J. and LERNER, A.B.: Clinical significance of cryoglobulinemia. Acta Med.Scand. Suppl. 196, p. 489, 1947.

- 108.- MACKAY, I.R., ERIKSEN, N., MORULSKY, A.G. and VOLWILER, W.: Cryo- and macroglobulinemia: electrophoretic, ultracentrifugal and clinical studies. *Amer.J.Med.* 20: 564, 1956.
- 109.- WUHRMANN, F.: Uber das Coma paraproteinaemicum bei Myelomen und Makroglobulinämien. *Schweiz.Med. Wschr.* 86: 623, 1956.
- 110.- SOMER, T.: The viscosity of blood, plasma and serum in dys- and paraproteinemias. *Acta Med. Scand.* (Suppl. 456) 180: 1, 1966.
- 111.- KOPP, W.L., BEIRNE, G.J. and BURNS, R.O.: Hyperviscosity syndrome in multiple myeloma. *Amer.J.Med.* 43: 141, 1967.
- 112.- MACKENZIE, M.R., FUDENBERG, H.H. and O'REILLY, R.A.: The hyperviscosity syndrome. I. In IgG myeloma. The role of protein concentration and molecular shape. *J.Clin.Invest.* 49: 15, 1970.
- 113.- LEVI, D.F., WILLIAMS, R.C. and LINDSTROM, F.D.: Immunofluorescent studies of the myeloma kidney with special reference to light chain disease. *Amer. J.Med.* 44: 922, 1968.



- 114.- MACKENZIE, M.R., WUEPPER, K.D., JORDAN, G. and FUDENBERG, H.H.: Rapid renal failure in a case of multiple myeloma. The role of Bence-Jones proteins. Clin.Exp.Immun. 3: 593, 1968.
- 115.- SOLOMON, A., WALDMANN, T.A. and FAHEY, J.L.: Metabolism of Bence-Jones protein. J.Clin.Invest. 43: 103, 1964.
- 116.- WOCHNER, R.D., STROBER, W. and WALDMANN, T.A.: The role of the kidney in the catabolism of Bence-Jones proteins and immunoglobulin fragments. J.Exp.Med. 126: 207, 1967.
- 117.- JENSEN, K.: Metabolism of Bence-Jones proteins in multiple myeloma patients and in patients with renal disease. Scand.J.Clin.Lab.Invest. 26: 13, 1970.
- 118.- ARENDS, A. and MANDERMA, E.: Observations on the pathogenesis of the so-called myeloma kidney. Trans. 6th Congr. Europ. Soc. Hemat., p. 137. S. Karger, Basel, 1957.
- 119.- DEBRAY, J.: L'amyloïdose primitive dans le cadre des dysglobulinémies primitives. Rev.Prat. 18: 1727, 1968.

- 120.- CLARKE, E.: Peripheral neuropathy associated with multiple myelomatosis. *Neurology* 6: 146, 1956.
- 121.- VICTOR, M., BANKER, B.W. and ADAMS, R.D.: The neuropathy of multiple myeloma. *J.Neurol.Neurosurg. Psychiat.* 21: 73, 1958.
- 122.- DEL DUCA, V., Jr. and MORNINGSTAR, W.A.: Multiple myeloma associated with multifocal leukoencephalopathy. *JAMA* 199: 671, 1967.
- 123.- ZAWADZKI, Z.A. and BENEDEK, T.G.: Rheumatoid arthritis, dysproteinemic arthropathy and paraproteinaemia. *Arthritis Rheum.* 12: 555, 1969.
- 124.- GALLI, T. and CHITI, E.: Rheumatoid arthritis and plasmacytomatosis. *Ann.Rheum.Dis.* 14: 271, 1955.
- 125.- HAMILTON, E.B.D. and BYWATERS, E.G.L.: Joint symptoms in myelomatosis and similar conditions. *Ann. Rheum.Dis.* 20: 353, 1961.
- 126.- WEGELIUS, O., SKRIFVAR, B. and ANDERSON, L.: Rheumatoid arthritis terminating in plasmacytoma. *Acta Med.Scand.* 187: 133, 1970.

- 127.- OSSERMAN, E.F., TAKATSUKI, K. and TALAL, N.: The pathogenesis of "amyloidosis". Studies on the role of abnormal gamma globulins and gamma globulin fragments of the Bence-Jones (1-polypeptide) type in the pathogenesis of "primary" and "secondary amyloidosis", and the "amyloidosis" associated with plasma cell myeloma. *Seminars.Hemat.* 1: 3, 1964.
- 128.- GOLDBERG, L.S., FISHER, R., CASTRONOVA, E.A. and CALABRO, J.J.: Amyloid arthritis associated with Waldenström's macroglobulinemia. *N.Engl.J.Med.* 281: 256, 1969.
- 129.- BESSIS, M., BRETON-GORIUS, J. and BINET, J.L.: Etude comparée du plasmocytome et du syndrome de Waldenström. *Nouv.Rev.Franç.Hemat.* 3: 159, 1963.
- 130.- PRUZANSKI, W., PLATTO, M.E. and OGRYZLO, M.A.: Leukemic form of immunocytic dyscrasia (plasma cell leukemia). *Amer.J.Med.* 47: 60, 1969.
- 131.- WEITZEL, R.A.: Carcinoma coexistent with malignant disorders of plasma cells. *Cancer* 11: 546, 1958.

- 132.- SHANBROM, E.: Multiple myeloma and coexistent carcinoma of the sigmoid colon. *Amer.J.Clin.Path.* 40: 67, 1963.
- 133.- CAWLEY, L.P., MINARD, B.J., TOURTELLOTT, W.W., MA, B.L. and CHELLE, C.: Immunofixation electrophoretic techniques applied to identification of proteins in serum and cerebrospinal fluid. *Clin. Chem.* 22: 1262-1268, 1976.
- 134.- RITCHIE, R.F., SMITH, R.: Immunofixation III. Application to the study of monoclonal proteins. *Clin. Chem.* 22: 1982-1985, 1976.
- 135.- FAHEY, J.L. and McKELVEY, E.M.: Quantitative determination of serum immunoglobulins in antibody-agar plates. *J.Immunol.* 94: 84-90, 1965.
- 136.- MARKOWITZ, H. and TSCHIDA, A.R.: Automated quantitative immunochemical analysis of human immunoglobulins. *Clin.Chem.* 18: 1364-1367, 1972.
- 137.- PERRY, M.C. and KYLE, R.A.: The clinical significance of Bence-Jones proteinuria. *Mayo Clin.Proc.* 50: 234-238, 1975.

- 138.- DALRYMPLE, J.: On the microscopic character of "mollities ossium". Dublin Quart.J.Med.Sci. 2: 85, 1848.
- 139.- CHRISTIAN, H.A.: Multiple myeloma: a histological comparison of six cases. J.Exp.Med. 9: 375, 1907.
- 140.- DRIVSHOLM, A. and CLAUSEN, J.: The relationship between the cytology and the immunoelectrophoretic pattern in 105 cases of myelomatosis. Acta Med. Scand. 175: 609, 1964.
- 141.- AXELSSON, U.: The plasma cells of bone marrow in myelomatosis treated with Alkeran (melphalan). Scand. J.Haemat. 3: 123, 1966.
- 142.- THIERY, J.P.: Etudes sur le plasmocyte en contraste de phase et en microscopie électronique. III. Plasmocytes à corps de Russell et à cristaux. Rev. Hemat. 13: 61, 1958.
- 143.- BESSIS, M.: Ultrastructure of lymphoid and plasma cells in relation to globulin and antibody formation. Lab.Invest. 10: 1040, 1961.

- 144.- MALDONADO, J., BAYRD, E.D. and BROWN, A.L.: The flaming cell in multiple myeloma. A light and electron microscopy study. *Amer.J.Clin.Path.* 44: 605, 1965.
- 145.- MALDONADO, J., KYLE, R.A., BROWN, A.L. and BAYRD, E. D.: "Intermediate" cell types and mixed cell proliferations in multiple myeloma: electron microscopic observations. *Blood* 27: 212, 1966.
- 146.- QUAGLIANO, D., TORELLI, U., SAULI, S. and MAURI, C.: Cytochemical and autoradiographic investigations of normal and myelomatous plasma cell. *Acta Haemat.* 38: 79, 1967.
- 147.- BRAUNSTEINER, H., FELLINGER, K. and PAKESCH, F.: Demonstration of a cytoplasmic structure in plasma cells. *Acta Haemat.* 38: 79, 1967.
- 148.- DePETRIS, S., KARLSBAD, G. and PERNIS, B.: Localizations of antibodies in plasma cells by electron microscopy. *J.Exp.Med.* 117: 849, 1963.
- 149.- RIFKIND, R.A., OSSERMAN, E.F., HSU, K.C. and MORGAN, C.: The intracellular distribution of gamma globulin in a mouse plasma cell tumor (X5563) as revealed by fluorescence and electron microscopy *J.Exp.Med.* 116: 423, 1962.

- 150.- PARASKEVAS, F., HEREMANS, J. and WALDENSTROM, J.: Cytology and electrophoretic patterns in  $\chi$ -1A ( $\beta$ -2A) myeloma. Acta Med.Scand. 170: 575, 1961.
- 151.- RASK-NIELSEN, R. and GORMSEN, H.: Spontaneous and induced plasma cell neoplasia in a strain of mice. Cancer 4: 387, 1951.
- 152.- RASK-NIELSEN, R. and EBBERSEN, P.: Spontaneous reticular neoplasm in (CBA x DBA//2)  $F_1$  mice, with special emphasis on occurrence of plasma cell neoplasm. J.Nat.Cancer Inst. 43: 553, 1969.
- 153.- POTTER, M. and ROBERSTON, C.L.: Development of plasma cell neoplasm in BALB/c mice after intraperitoneal injection of paraffin-oil adjuvant, neat killed staphylococcus mixtures. J.Nat.Cancer Inst. 25: 847, 1960.
- 154.- POTTER, M.: Plasma cell neoplasia in a single host: a mosaic of different protein-producing cell types. J.Exp.Med. 115: 339, 1962.
- 155.- RASK-NIELSEN, R.: Evidence of murine, virus-induced, paraprotein-producing leukemia and its relation to other virus-induced leukemias. Nature (London) 200: 400, 1963.

- 156.- POTTER, M. and LEON, M.A.: Three IgA myeloma immunoglobulin from the BAUB/c mouse: precipitation with pneumococcal C polysaccharide. Science 162: 369, 1968.
- 157.- POTTER, M.: Mouse IgA myeloma proteins that polysaccharide antigens of enterobacterial origin. Fed. Proc. 29: 85, 1970.
- 158.- OSSERMAN, E.F. and FAHEY, J.L.: Plasma cell dyscrasias: Combined staff clinic. Amer.J.Med. 44: 256, 1968.
- 159.- GITELMAN, H.J.: An improved automated procedure for the determination of calcium in biological specimens. Anal.Biochem. XVIII 521, 1967.
- 160.- KESSLERAND, G. and WOLFMAN, M.: An automated procedure for the simultaneous determination of calcium and phosphorous. Clin.Chem. X: 686-703, 1964.
- 161.- DIEM, K. y LENTNER, C.: Tablas científicas, 7ª ed. Barcelona./Geigy, 1975.
- 162.- KYLE, R.A.: Multiple myeloma: review of 869 cases. Mayo Clinic Proc. 50: 29-40, 1975.



- 163.- ISOBE, T. and OSSERMAN, E.F.: Pathologic conditions associated with plasma cell dyscrasias: A study of 806 cases. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 190: 507-517, 1971.
- 164.- BAYRD, E.D. and HECK, J.F.: Multiple myeloma: a review of eighty-three proved cases. *JAMA* 133: 147, 1947.
- 165.- CARSON, C.P., ACKERMAN, L.V. and MALTHY, J.D.: Plasma cell myeloma. A clinical, pathologic and roentgenologic review of ninety cases. *Am.J.Pathol.* 25: 849, 1955.
- 166.- MUNDY, G.R., RAISZ, L.G., COOPER, R.A. et al.: Evidence for the secretion of an osteoclast stimulating factor in myeloma. *N.Engl.J.Med.* 291: 1041, 1974.
- 167.- GALASKO, C.S.B.: Mechanism of bone destructions in the development of skeletal metastases. *Nature* 263: 507, 1976.
- 168.- BROWN, M. and BATTLE, J.L., Jr.: The effect of urography on renal function in patients multiple myeloma. *Can.Med.Assoc.J.* 91: 786-790, 1964.

- 169.- MYERS, G.H., Jr. and WITTEN, D.M.: Acute renal failure after excretory urography in multiple myeloma (editorial). Am.J.Roentgenol. Radiumther. Nucl. Med. 113: 583-588, 1971.